



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

**THIAGO JORGE**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE  
CATECOLAMINAS COM COBRE(II) NA PRESENÇA DE  
TIOSSULFATO DE SÓDIO**

---

Londrina

2008

**THIAGO JORGE**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE  
CATECOLAMINAS COM COBRE(II) NA PRESENÇA DE  
TIOSSULFATO DE SÓDIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química dos Recursos Naturais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Londrina como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Wagner José Barreto

Co-orientador(a): Profa. Dra. Sônia Regina Giancoli Barreto

Londrina  
2008

**THIAGO JORGE**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE  
CATECOLAMINAS COM COBRE(II) NA PRESENÇA DE  
TIOSSULFATO DE SÓDIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química dos Recursos Naturais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Londrina como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Wagner José Barreto  
UEL - Londrina – PR

---

Prof. Dr. Noboru Hioka  
UEM - Maringá - PR

---

Prof. Dr. Henrique de Santana  
UEL - Londrina – PR

Londrina, 28 de novembro de 2008.

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais José Paulo, Izaltina, Tia Lizete, Tio Luis Carlos (Baby), que tanto colaboraram para que eu chegasse até aqui, por todo o amor, dedicação, carinho e confiança*

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos:

...Ao grande protetor planetário JESUS

...Ao Professor Dr. Wagner José Barreto, pela orientação, e pelos tantos anos de apoio e confiança na execução deste trabalho e do TCC.

...À professora Dra. Sônia Regina Giancoli Barreto pela co-orientação, amizade e pelas conversas e conselhos amigos.

...Aos amigos da visibilidade e invisibilidade maior, sendo: Mei-Mei, Nosso Lar, NES, Equipe de Amor e Luz e tanto outros lugares em que estive aprendendo; Rio Preto, Birigui, Araçatuba e Londrina.

...Àos meus dois grandes professores de ensino de vida: Paulo Costa e Aurora.

...Aos meus amigos da academia Adon Fitness ...Aos meus amigos de curso de Mestrado e Graduação.

...Aos meus grandes e verdadeiros amigos.

...À Capes pela bolsa concedida.

...A todos agradeço imensamente.

*'Não somos seres humanos passando por uma experiência espiritual... Somos seres espirituais passando por uma experiência humana" (Teilhard Chardin)*

JORGE, Thiago. **Preparação e caracterização de complexos de catecolaminas com cobre(II) na presença de tiosulfato de sódio**. 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) -Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

## RESUMO

O estudo dos meios reacionais entre catecolaminas e metais de transição tem grande importância em várias áreas da química, inclusive na química do meio ambiente devido à formação de compostos potencialmente tóxicos. As catecolaminas em presença de O<sub>2</sub> são oxidadas formando melanina, um complexo insolúvel em meio aquoso, no entanto em meio de S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> e metais de transição há formação de complexos de transferência intraligante do tipo: ligante-ligante. Apresentamos neste trabalho a investigação da reação entre dopamina, L-dopa, noradrenalina, adrenalina com Cu(II) em presença de S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> em meio aquoso. Os complexos aniônicos [Cu(L<sup>-1</sup>)<sub>3</sub>]<sup>1-</sup>, L<sup>-</sup> = dopasemiquinona ou L-dopasemiquinona, foram preparados e caracterizados. Os complexos foram estáveis em solução aquosa mostrando intensas bandas de absorção em 605 nm para Cu(II)-L-dopasemiquinona e 595 nm para Cu(II)- dopasemiquinona para espectro de UV-Vis, de transições de carga intraligantes. Noradrenalina e adrenalina, nas mesmas condições, não formaram complexos com cobre, mas apresentaram modificações em bandas na região do UV mostrando que a adrenalina e noradrenalina foram oxidadas durante o processo. Os complexos foram analisados por espectroscopia Raman Ressonante e a banda intensa em 1384 cm<sup>-1</sup> foi atribuída aos estiramentos  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO})$  para formas semiquinônicas. Por espectroscopia de (Ressonância Paramagnética Eletrônica) EPR, obteve-se os sinais de radicais orgânicos com  $g = 2.0115$  e  $g = 1,9980$ , e para Cu(II) os valores de  $g = 2.0923$  e  $g = 2.0897$  que complexou com L-dopasemiquinona e dopasemiquinona, respectivamente. A possibilidade de formação de complexos estáveis de cobre com dopamina e L-dopa em pH neutro, e não para adrenalina e noradrenalina, pode ser importante para o entendimento de como o complexo Cu(II)-dopamina atravessaria a membrana celular como proposto na literatura e a sua relação com o surgimento da doença de Wilson.

**Palavras-chave:** Catecolaminas. Espectrofotometria UV-vis. Semiquinona. Doença de Wilson.

JORGE, Thiago. **Preparação e caracterização de complexos de catecolaminas com cobre(II) na presença de tiosulfato de sódio**. 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química dos Recursos Naturais) -Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

### ABSTRACT

The anionic complexes  $[\text{Cu}(\text{L}^{1-})_3]^{1-}$ , L = dopasemiquinone or L-dopasemiquinone, were prepared and characterized. The complexes are stable in aqueous solution showing intense absorption bands at 605 nm for Cu(II)-L-dopasemiquinone and at 595 nm for Cu(II)-dopasemiquinone in the UV-Vis spectra, that can be assigned to intraligand transitions. Noradrenaline and adrenaline, under the same experimental conditions, did not yield Cu-complexes, despite the bands in the UV region indicate that noradrenaline and adrenaline were oxidized during the processes. The complexes display a resonant Raman effect, and the most enhanced bands involve ring modes and particularly the  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO})$  stretching mode at  $1384\text{cm}^{-1}$ . The free radical nature of the ligands and the oxidation state of the Cu(II) were confirmed by the EPR spectra that display absorptions assigned to organic radicals with  $g = 2,0115$  and  $g = 1,9980$  and for Cu(II) with  $g = 2.0923$  and  $g = 2.0897$  for L-dopasemiquinone and dopasemiquinone, respectively. The possibility that dopamine and L-dopa can form stable and aqueous soluble copper complexes at neutral pH, whereas noradrenaline and adrenaline cannot, may be important in understanding how Cu(II)-dopamine crosses the cellular membrane as proposed in the literature to explain the role of copper in Wilson disease.

**Key words:** Catecolamines. Spectrophotometer UV-vis. Semiquinone. Wilson disease.

## LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1** - Processos enzimáticos de transformações das catecolaminas<sup>[3]</sup>.....17
- Esquema 2** - Mecanismo de ação intracelular de dopamina mediado por manganês<sup>[23]</sup>.....29
- Esquema 3** - Mecanismo proposto por (PARIS et al, 2001) para explicar a neurotoxicidade do íon cobre nas células<sup>[40]</sup>.....34
- Esquema 4** - Oxidação da L-dopa e dopamina de acordo com Graham, G. D,1978. 1, tirosina; 2, dopa; 3, dopamina; 6, dopaquinona; 7, leucodopacromo; 8, dopacromo; 9, topa; 10, topa o-quinona; 11, topa p-quinona; 12, dopamina o-quinona; ; 13, leucoaminocromo; 14, aminocromo; 15, 6-hidroxi-dopamina; 16, o-quinona de 6-hidroxi-dopamina; 17, p-quinona de 6-hidroxi-dopamina; 24, dihidroxiindol ( e derivados); 25, indol quinona ( e derivados). “n” refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina. ....60
- Esquema 5** - Oxidação da Adrenalina de acordo com Graham, G. D,1978. 4, noradrenalina; 5, adrenalina; 21, adrenalina o-quinona; 22, leucoadrenocromo; 23, adrenocromo; 24, dihidroxiindol (e derivados); 25, indol quinona (e derivados). “n” refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina. ....70
- Esquema 6** - Oxidação da Noradrenalina de acordo com Graham, G. D,1978. 3, dopamina; 4, noradrenalina; 18, noradrenalina oquinona; 19, leuconoradrenocromo; 20, noradrenocromo; 24, dihidroxiindol ( e derivados); 25, indol quinona ( e derivados). “n” refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina.....75
- Esquema 7** - Dioxolenos em suas formas redox: Da direita para esquerda, Catecolato ( $L^{2-}$ ), semiquinona ( $L^{1-}$ ) e quinona ( $L$ )<sup>[18]</sup>. ....85

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores das constantes de dissociação da espécie Dopamina na literatura .....	26
<b>Tabela 2</b> - Valores das constantes de dissociação da Noradrenalina encontradas na literatura.....	30
<b>Tabela 3</b> - Valores das constantes de dissociação da Adrenalina encontradas na literatura.....	31
<b>Tabela 4</b> - Frequências observadas (em número de onda) e tentativas de atribuições para os complexos de cobre com dopamina e L-dopa oxidados em solução aquosa, solução de clorofórmio e estado sólido.....	86

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Diagrama de uma sinapse. (A) Axônio pré-sináptico (B) fenda sináptica e (C) célula pós-sináptica <sup>[51]</sup> .....	19
<b>Figura 2</b> - Dioxolenos nas formas: Catecolato ( $L^{2-}$ ), semiquinona ( $L^{1-}$ ) e quinona ( $L$ ) <sup>[14]</sup> . ....	22
<b>Figura 3</b> - Estrutura molecular de L-dopa .....	23
<b>Figura 4</b> - Estrutura molecular de Dopamina .....	25
<b>Figura 5</b> - Representação de liberação da Dopamina atravessando a fenda sináptica e chegando a seu receptor <sup>[21]</sup> .....	25
<b>Figura 6</b> - Mecanismo proposto de deprotonação da Dopamina por Sanchez-Rivera et al, 2003[22]. ....	26
<b>Figura 7</b> - Estrutura molecular de Leucoaminocromo o-semiquinona. ....	27
<b>Figura 8</b> - Estrutura molecular de Melanina(26). ....	28
<b>Figura 9</b> - (A) Estrutura molecular de Noradrenalina (B) Estrutura molecular de Adrenalina.....	29
<b>Figura 10</b> - Representação esquemática da condição de ressonância e seu respectivo espectro eletrônico <sup>[47]</sup> . ....	36
<b>Figura 11</b> - (A) Espectro UV-Vis representado durante todo tempo de reação, da solução aquosa de L-dopa (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	61
<b>Figura 12</b> - (A)Espectro UV-Vis representado durante todo tempo de reação, da solução aquosa de dopamina (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	61
<b>Figura 13</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de L-dopa (0,10 g) em meio de cobre(II)(0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	62
<b>Figura 14</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de dopamina (0,10 g) em meio de cobre(II)(0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	62

<b>Figura 15</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de L-dopa (0,10 g), em meio de cobre(II) (0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g). a) 280nm fase inicial, b) 320nm fase intermediária e c) 605 nm fase final, (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	63
<b>Figura 16</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de dopamina (0,10 g), em meio de cobre(II)(0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g), a) 280nm fase inicial, b) 313nm fase intermediária e c) 595 nm fase final), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.....	64
<b>Figura 17</b> - Diagramas de Pourbaix das soluções L-dopa (A) e dopamina (B) em meio de cobre(II) e presença de tiosulfato, a) fase inicial na região redutora ácido, b) fase intermediária na região redutora básico e c) fase final retorno a região redutora ácida. ....	65
<b>Figura 18</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.....	69
<b>Figura 19</b> - (A)Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g) e de nitrato de cobre(II) (0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.....	71
<b>Figura 20</b> - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g), nitrato de cobre(II)(0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g) a) 280nm, b) 283nm, c) 297nm, d) 300 e 340nm e e) 285 e 342 nm, (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	72
<b>Figura 21</b> - Diagrama de pourbaix da solução Adrenalina, nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato de sódio a) fase inicial na região redutora básica e b) fase final na região redutora ácida. ....	73
<b>Figura 22</b> - (A) Espectro UV-Vis durante todo tempo de reação, da solução aquosa de noradrenalina (0,05 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,08 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	74

<b>Figura 23</b> - (A) Espectro UV-Vis durante todo tempo de reação, da solução de noradrenalina (0,05 g) em meio de nitrato de cobre(II) (0,01 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação. ....	75
<b>Figura 24</b> - (A) Espectro UV-Vis final, da solução de noradrenalina (0,05 g), nitrato de cobre(II) (0,01 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,08 g), e gráfico de pH, (B) Eh em função do tempo de reação. ....	76
<b>Figura 25</b> - Diagrama de Pourbaix da solução noradrenalina, nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato de sódio, a) fase inicial e final, na região redutora ácida. ....	77
<b>Figura 26</b> - Espectros UV-Vis das soluções aquosas de: (A) [Cu(II)(dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> , (B) [Cu(II)(Ldopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> . A (C) adrenalina e (D) noradrenalina oxidadas na presença de Cu(II) sem formar complexos estáveis. ....	81
<b>Figura 27</b> - Espectro Raman de [Cu(II)(dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> em solução aquosa usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 647.1 nm (laser vermelho). Resolução de 4 cm <sup>-1</sup> e potência laser de 250 mW. ....	83
<b>Figura 28</b> - Espectro Raman de [Cu(II)(dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> no estado sólido usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 632,8 nm (laser vermelho). Resolução de 5 cm <sup>-1</sup> e potência laser de 30 mW. CTA= cátion hexadeciltrimetilamônio. ....	83
<b>Figura 29</b> - Espectro Raman de [Cu(II)(L-dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> em solução aquosa usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 647.1 nm (laser vermelho). Resolução de 4 cm <sup>-1</sup> e potência laser de 250 mW. ....	84
<b>Figura 30</b> - Espectro Raman de [Cu(II)(L-dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> no estado sólido usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 632.8 nm (laser vermelho). Resolução de 4 cm <sup>-1</sup> e potência laser de 250 mW. CTA= cátion hexadeciltrimetilamonio. ....	85
<b>Figura 31</b> - Espectro Raman da solução de clorofórmio: (A) [CTA][Cu(II)(dopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> e (B) [CTA][Cu(II)(Ldopasemiquinona) <sub>3</sub> ] <sup>1-</sup> , excitado com radiação de 632.8 nm. Os asterísticos indicam as bandas de clorofórmio. ....	87

- Figura 32** - Espectro no infravermelho: em vermelho, CTAB, brometo de hexadeciltrimetilamonio; (A) em azul  $[CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)_3]^{1-}$ ; (B) em azul  $[CTA][Cu(II)(Ldopasemiquinona)_3]^{1-}$ . Pastilha de KBr (1:100), resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e acumulação de 80 espectros. CTA= cátion hexadeciltrimetilamonio. ....89
- Figura 33** - Espectro de EPR adquirido em temperatura ambiente: (A)  $[CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)_3]^{1-}$  em solução de clorofórmio; (B)  $[CTA][Cu(II)(L-dopasemiquinona)_3]^{1-}$  em solução de clorofórmio. Os asterísticos indicam o Mn(II) como referência de campo. ....90
- Figura 34** - Espectro de EPR adquirido em temperatura ambiente: (A)  $[CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)_3]^{1-}$  em solução de tolueno; (B)  $[CTA][Cu(II)(L-dopasemiquinona)_3]^{1-}$  em solução de clorofórmio. Os asterísticos indicam o Mn(II) como referência de campo e (+) indica a presença de Cu(II) em solução. ....91
- Figura 35** - Três dopaminas complexadas na forma de semiquinona. ....92

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1 CATECOLAMINAS .....	17
1.1.1 Catecolaminas, Neurotransmissores.....	18
1.2 ESTRESSE OXIDATIVO .....	19
1.3 DIOXOLENOS .....	21
1.3.1 Catecolatos, Semiquinonas e Quinonas .....	21
1.4 L-DOPA (LEVODOPA) .....	23
1.5 DOPAMINA.....	25
1.5.1 Oxidação da Dopamina sem Metal .....	27
1.5.2 Oxidação da Dopamina com Metal .....	28
1.6 NORADRENALINA E ADRENALINA.....	29
1.6.1 Oxidação de Noradrenalina e Adrenalina com Cobre .....	31
1.7 COBRE E DOENÇA DE WILSON .....	32
1.8 (RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA) EPR.....	34
1.9 ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO E RAMAN RESSONANTE .....	36
1.10 UV-VIS.....	38
1.11 ELETRODO DE PLATINA E DIAGRAMA DE POURBAIX .....	39
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	42
<b>3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	43
3.1 MATERIAIS.....	43
3.2 EQUIPAMENTOS .....	43
3.3 REAGENTES .....	44
3.4 PREPARO DOS MEIOS REACIONAIS .....	45
3.4.1 Solução A (Dopamina + Tiossulfato de Sódio) .....	45
3.4.2 Solução B (Dopamina + Nitrato de Cobre(II)) .....	45
3.4.3 Solução C (Dopamina + Tiossulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II)).....	45
3.4.4 Solução D (L-dopa + Tiossulfato de Sódio) .....	46
3.4.5 Solução E (L-dopa + Nitrato de Cobre(II)) .....	46
3.4.6 Solução F (L-dopa + Tiossulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II)) .....	47
3.4.7 Solução G (Noradrenalina + Tiossulfato de Sódio) .....	47

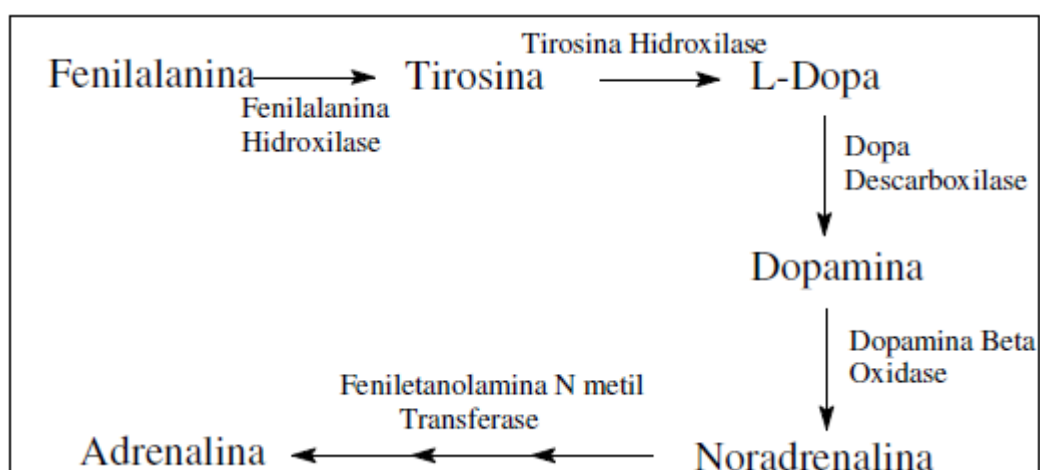
3.4.8 Solução H (Noradrenalina + Nitrato de Cobre(II)) .....	48
3.4.9 Solução I (Noradrenalina + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II)) .....	48
3.4.10 Solução J (Adrenalina + Tiosulfato de Sódio) .....	49
3.4.11 Solução K (Adrenalina + Nitrato de Cobre(II)) .....	49
3.4.12 Solução L (Adrenalina + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II)) .....	50
3.4.13 Solução M (CTAB).....	50
3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS.....	51
3.5.1 Análise Elementar de Chn e Determinação de Cobre por Espectroscopia de Absorção Atômica .....	51
3.5.2 Obtenção dos Espectros Uv-Vis em Clorofórmio .....	51
3.5.3 Espectros no Infravermelho (IV).....	52
3.5.4 Espectros Raman.....	52
3.5.5 Espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) .....	52
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES - PARTE 1ª .....</b>	<b>59</b>
5.1 ESTUDOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS UV-VIS, PH E EH DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DURANTE A REAÇÃO DE CATECOLAMINAS (DOPAMINA, L-DOPA, ADRENALINA E NORADRENALINA) COM COBRE(II) EM MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO .....	59
5.1.1 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina.....	59
5.1.2 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina com Cobre(II) em Meio de Tiosulfato de sódio .....	60
5.1.3 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina, em Meio de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio.....	63
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>67</b>
<b>7 RESULTADOS E DISCUSSÕES - PARTE 1B .....</b>	<b>68</b>
7.1 REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ADRENALINA .....	68
7.1.1 Reação de Oxidação de Adrenalina em Meio de Tiosulfato de Sódio.....	68
7.1.2. Reação de Oxidação de Adrenalina em Meio de Nitrato de Cobre(II) .....	70
7.1.3 Reação de Oxidação de Adrenalina, Nitrato de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio .....	72

7.2 REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE NORADRENALINA .....	73
7.2.1 Reação de Oxidação de Noradrenalina em Meio de Tiosulfato de Sódio e Reação de Oxidação de Noradrenalina em Presença de Nitrato de Cobre (II).....	74
7.2.2 Reação de Oxidação de Noradrenalina, Nitrato de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio.....	76
<b>8 CONCLUSÕES .....</b>	<b>78</b>
<b>9 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>
<b>10 RESULTADOS E DISCUSSÕES - PARTE 2.....</b>	<b>80</b>
10.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA; UV-VIS, RAMAN E IV DOS COMPLEXOS DE CATECOLAMINAS (DOPAMINA, L-DOPA, ADRENALINA E NORADRENALINA) COM COBRE(II) OBTIDO EM MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO .....	81
10.1.1 Espectro de Absorção UV-Vis .....	81
10.1.2 Espectros Vibracionais (Raman Ressonante e Infravermelho) .....	82
10.1.3 Caracterização por EPR.....	89
<b>11 CONCLUSÕES .....</b>	<b>92</b>
<b>12 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>94</b>
<b>APÊNDICE A - (EPR) .....</b>	<b>95</b>
<b>APÊNDICE B - (C H N E AA).....</b>	<b>97</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 CATECOLAMINAS

As catecolaminas pertencem ao grupo de amins derivadas da fenilalanina (2-Amino-3-phenylpropanoic acid, C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>,) que é um aminoácido essencial da dieta humana ou diretamente do metabólito tirosina (3-[4-Hydroxyphenyl] alanine)<sup>[1]</sup>. As principais catecolaminas são; dopamina (3,4-Dihydroxyphenethyl-amine), L-dopa (L-3,4-Dihydroxyphenyl-alanine), norepinefrina (1-[3,4-Dihydroxyphenyl]-2-aminoethanol) ou noradrenalina, a epinefrina (4-[1 - Hydroxy-2-(Methylamino)ethyl]-1,2-benzenediol) ou adrenalina<sup>[2]</sup>. A fenilalanina é convertida em tirosina pela enzima fenilalanina hidroxilase, a tirosina por sua vez é transformada em levodopa, ou L-dopa, pela enzima tirosina hidroxilase. A L-dopa é convertida em dopamina através da enzima dopa-descarboxilase, que através da dopamina beta hidroxilase é transformada em noradrenalina que por fim é convertida em adrenalina pela enzima feniletanolamina-N-metil-transferase. Esquema 1.



**Esquema 1** - Processos enzimáticos de transformações das catecolaminas<sup>[3]</sup>.

As catecolaminas exercem efeitos excitatórios e inibitórios ou moduladores tanto no sistema nervoso periférico, exercido pelo sistema nervoso simpático, quanto no sistema nervoso central (SNC), exercido principalmente pelas vias noradrenérgicas e dopaminérgicas. No SNC a ativação simpática acarreta estimulação da respiração e aumento da atividade psicomotora.

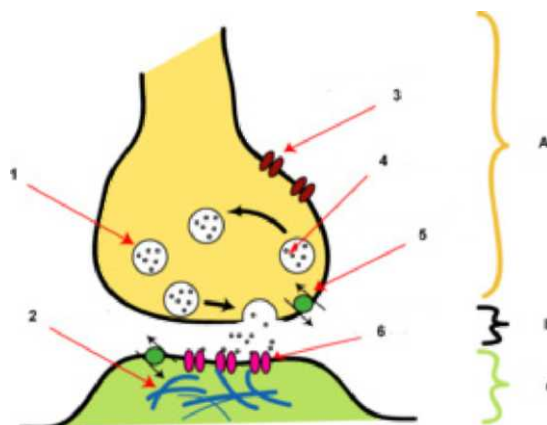
Os efeitos excitatórios são exercidos nas células dos músculos lisos do leito vascular que irriga a pele, mucosas, promovendo a vasoconstrição. Sobre a atividade cardíaca, a estimulação simpática acarreta aumento da frequência cardíaca e da força de contração da musculatura cardíaca.

Os efeitos inibitórios, ao contrário, são exercidos na musculatura lisa estomacal, árvore brônquica e leito vascular da musculatura esquelética<sup>[4]</sup>.

### 1.1.1 Catecolaminas, Neurotransmissores

As catecolaminas são neurotransmissores de baixo massa molecular e tem vários efeitos sobre as funções das células neuronais<sup>[5]</sup>.

O impulso nervoso, ao se propagar em direção a seu destino, normalmente não o atinge através de um único neurônio. Geralmente, o impulso alcança o terminal de um nervo que está em contato com outra estrutura. O local de contato é denominado de *sinapse* ou *junção sináptica*. O elemento *pré-sináptico* é a porção terminal da fibra nervosa, axônio (Figura 1). O elemento pós-sináptico é o dendrito, ou corpo neuronal, do neurônio seguinte da via, ou uma célula muscular cardíaca, esquelética ou lisa, ou uma glândula. Esses estão separados por uma distância de 15 a 100 nm, denominada *fenda sináptica*. A transferência de informação através da *junção sináptica* é chamada de *transmissão sináptica*, que pode ser química ou elétrica. Em vertebrados, a maioria das sinapses são químicas. A transmissão química é feita através da liberação de uma substância do elemento pré-sináptico da junção, o neurotransmissor. O neurotransmissor atravessa a fenda sináptica e atua nos receptores, canais ligantes-dependentes, presentes na membrana do elemento pós-sináptico <sup>[6]</sup>.



**Figura 1** - Diagrama de uma sinapse. (A) Axônio pré-sináptico (B) fenda sináptica e (C) célula pós-sináptica<sup>[51]</sup>.

## 1.2 Estresse oxidativo

Atualmente, devido ao aumento da expectativa de vida da população, existe um crescente interesse no estudo de doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, coreia (por referir-se a movimentos coréicos e não originário da Coreia) de Huntington e esclerose lateral amiotrófica (ELA). Uma vertente destes estudos demonstra que o estresse oxidativo tem papel importante e pode até mesmo desencadear o processo de neurodegeneração. Esta vertente é fortalecida pelo fato de que neurônios são altamente propensos a situações de estresse oxidativo. O estresse oxidativo é definido como a situação na qual a formação de espécies reativas excede significativamente a capacidade de defesa antioxidante e de reparo do organismo, tendo como consequência o aumento de danos a biomoléculas (DNA, lipídios, proteínas).

Estes danos, quando não reparados, acabam comprometendo o funcionamento da célula e levando à morte por apoptose ou necrose. Marcadores de estresse oxidativo, como carbonilas protéicas, nitro-tirosina, produtos de peroxidação lipídica e bases de DNA oxidadas, são detectados em concentrações aumentadas em tecidos de pacientes e modelos animais das doenças de Alzheimer e de Parkinson bem como na ELA. Neste contexto, a investigação de situações de estresse oxidativo no sistema nervoso central (SNC) é primordial para compreender

como espécies oxidativas contribuem para a patologia de doenças neurodegenerativas. Todos os tecidos humanos sofrem lesões oxidativas, porém, por diversas razões, o sistema nervoso central é especialmente sensível. Primeiramente, o SNC tem capacidade reduzida de regeneração celular em comparação com outros órgãos. Isto porque os neurônios de um indivíduo adulto são células pós-mitóticas, ou seja, não se replicam mais.

A morte de neurônios induzida por toxinas ou pelo processo normal de envelhecimento pode causar sérios comprometimentos ao sistema nervoso. Em segundo lugar, características intrínsecas do SNC e de seu metabolismo, as quais serão abordadas mais adiante, o tornam mais propenso a danos causados por espécies oxidantes. O consumo de oxigênio ( $O_2$ ) pelo cérebro é muito elevado. Em humanos, o cérebro é responsável por cerca de 20% do consumo total de  $O_2$ . A grande demanda por  $O_2$  deve-se ao alto consumo de ATP ( $4 \times 10^{21}$  ATP/min) pelos neurônios, para manter o potencial de membrana e o fluxo de neurotransmissores. Isto significa que os neurônios dependem muito da eficiência das mitocôndrias. Todavia, elétrons podem vazar da cadeia de transporte de elétrons e gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) que, por sua vez, podem danificar a mitocôndria. Em contrapartida, a mitocôndria lesada apresenta maior vazamento de elétrons e, conseqüentemente, produz mais EROs, gerando um ciclo vicioso <sup>[7]</sup>. Muitos dos neurotransmissores são oxidáveis. A dopamina, seu precursor levedopa (L-dopa) Fig.3 e noradrenalina, por exemplo, reagem com  $O_2^{\cdot-}$  gerando o ânion radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), quinonas e semiquinonas reativas. Experimentos demonstraram que o radical  $O_2^{\cdot-}$  é formado no cérebro em condições normais e também em diferentes situações de estresse, como a isquemia (falta de suprimento sanguíneo para um tecido orgânico), inibição da cadeia de transporte de elétrons e neurotoxicidade do glutamato, que está envolvido na formação de lesões no tecido cerebral. A isquemia também pode causar a liberação de metais de transição como, por exemplo, de íons ferro capazes de catalisar a formação de radical ( $HO^{\cdot}$ ), e o dano de mitocôndrias, aumentando o "vazamento" de elétrons, a peroxidação lipídica e a oxidação de neurotransmissores<sup>[7,8]</sup>.

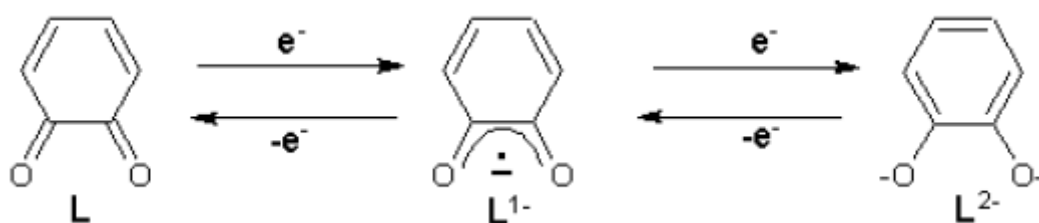
### 1.3 DIOXOLENOS

O termo dioxoleno (Diox) é usado para ligantes derivados de 1,2-dioxobenzeno, sem especificar o estado de oxidação, isto é, para catecolato dianion ( $L^{2-}$ ), o-semiquinona radical ânion ( $L^{1-}$ ), ou quinona (L), sem especificar os substituintes do anel benzeno<sup>[9]</sup>.

Catecóis, semiquinonas e quinonas são ligantes dioxolenos altamente reativos e importantes por estarem presentes em moléculas biológicas, por apresentarem interessantes propriedades redox, magnéticas<sup>[10]</sup>, estruturais, eletroquímicas, e por possuírem seletividade em investigações espectroscópicas e também de eletrotransferência<sup>[11]</sup>. Dioxolenos são ligantes que apresentam grande atividade de oxi-redução, e portanto suas coordenações químicas e estruturas eletrônicas desses compostos são as mais variadas possíveis<sup>[11,12]</sup>. A química dos dioxolenos e metais de transição é bem conhecida. Os complexos com metais de transição da segunda e terceira fileiras da tabela periódica exibem características químicas e de transferência de elétrons bem diferentes<sup>[11]</sup>. Estudos de complexos de coordenação de metais de transição contendo ligantes catecolatos e semiquinonas tem mostrado propriedades interessantes, resultado da similaridade entre energias dos níveis eletrônicos  $n$  da quinona com orbitais  $d$  dos metais. Essas propriedades incluem estudos de equilíbrio de eletro-transferência metal-ligante e trocas magnéticas envolvendo o radical semiquinona do tipo metal-ligante e ligante-ligante<sup>[13]</sup>. Os espectros eletrônicos dos complexos dioxolenos são freqüentemente dominados por bandas de transferência de carga e transições intraligantes<sup>[10]</sup>.

#### 1.3.1 Catecolatos, Semiquinonas e Quinonas

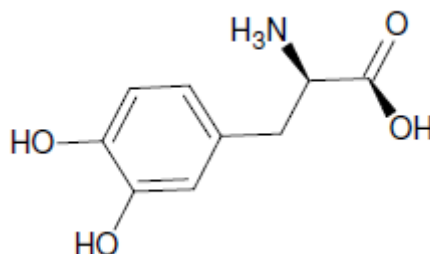
A variação na delocalização de elétrons nos complexos de dioxolenos é uma característica físico-química interessante. As reações redox dos dioxolenos podem originar três possíveis formas: di-ânion radical catecolato ( $L^{2-}$ ), o mono-ânion radical semiquinona ( $L^{1-}$ ) e quinona (L). Como ilustrado figura 2.



**Figura 2** - Dioxolenos nas formas: Catecolato ( $L^{2-}$ ), semiquinona ( $L^{1-}$ ) e quinona ( $L$ )<sup>[14]</sup>.

O espectro eletrônico na região do visível de complexos de catecóis e quinonas é relativamente fácil de interpretar, por apresentarem transferência de carga do ligante para o metal (LMCT), ou do metal para o ligante (MLCT). Complexos metal-catecolatos são bastante interessantes devido a sua atividade redox, a sua presença em sistemas biológicos, catecol dioxigenase<sup>[15]</sup>, e por serem agentes sequestrantes de metal<sup>[16]</sup> e ainda pela habilidade dos ligantes catecolatos, em estabilizar estruturas através de coordenações favoráveis<sup>[17]</sup>. Complexos coloridos de Fe(III) com ligantes catecolatos são bem conhecidos e usados em testes analíticos, e a intensa coloração formada se deve a transferência de carga entre o metal e o ligante. Catecóis podem promover estresse oxidativo, tendo como início a liberação do ferro da ferritina (a mais importante proteína de reserva do ferro encontrada nas células envolvidas na síntese de compostos férricos e no metabolismo) no cérebro, onde o metal catalisa a produção de radicais hidroxila ( $HO \bullet$ )[18]. Um exemplo de complexos metal-catecolato pode ser encontrado em sistemas biológicos como; catecol-dioxigenases ou sideróforos, todos com alta estabilidade termodinâmica<sup>[19]</sup>. Outra importante característica dos complexos catecolatos é a possibilidade de ocorrência de oxidação em sua estrutura gerando um ânion radical semiquinônico (SQ)<sup>[14]</sup>. Os radicais o-semiquinona são ligantes notáveis, habéis para formar ligações estáveis com metais de transição ou não. Frequentemente semiquinonas (SQ) comportam-se como radicais orgânicos que se estabilizam por coordenação<sup>[9]</sup>. Os espectros dos complexos semiquinônicos são mais complicados, devido às transições internas dos ligantes na região do ultravioleta próximo, e transições no infravermelho próximo e MLCT e LMCT<sup>[10]</sup>.

#### 1.4 L-dopa (LEVODOPA)



**Figura 3** - Estrutura molecular de L-dopa

Foi James Parkinson, um médico inglês, que em 1817, que primeiro descreveu detalhadamente os sintomas da paralisia agitante, ou paralisia com tremor. Cerca de 70 anos mais tarde, o neurologista francês Jean Charcot fez referência à síndrome como parkinsonismo<sup>[20]</sup>. A doença de Parkinson afeta uma em cada cem pessoas acima dos 65 anos, sendo a segunda doença neurodegenerativa mais comum, só ficando abaixo da doença de Alzheimer<sup>[18]</sup>. Os sinais clássicos são: rigidez muscular, bradicinesia (lentidão na realização de movimentos), tremor e acinesia ou ausência de movimentos. Existem também anormalidades na marcha, perda da expressão facial, micrografia, instabilidade postural, dificuldades na fala e muitos outros sintomas. Os sintomas do parkinsonismo acham-se correlacionados à destruição da substância negra porção compacta, sede da síntese de dopamina, que se projeta para o estriado, através da via nigroestriatal<sup>[6]</sup>.

Pesquisas realizadas com técnicas histoquímicas para monoaminas (método de Flack) mostraram que as fibras provenientes da substância negra, são formado por neurônios ricos em dopamina. Os neurônios dopaminérgicos nigrais apresentam a peculiaridade de conter inclusões de melanina. As fibras dopaminérgicas que tem origem na substância nigra projetam-se ao corpo estriado através da via nigroestriatal. Elas terminam fazendo sinapse nos neurônios do núcleo caudado e putamen, o que explica as elevadas concentrações de dopamina observadas nestes núcleos<sup>[20]</sup>. No parkinsonismo, os neurônios da substância negra, assim como suas projeções nigroestriadas, degeneram; conseqüentemente, as

concentrações de dopamina nos gânglios da base se reduz ocasionando os sintomas.

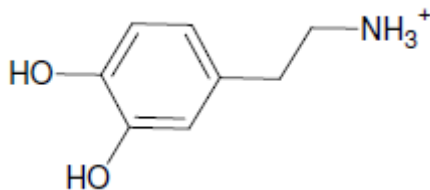
A administração de L-dopa provoca um aumento no nível de dopamina no cérebro. O fato que levou ao emprego de L-dopa no tratamento de pacientes com parkinsonismo teve início na década de 50, quando foi observado que a droga anti-hipertensiva reserpina, era capaz de produzir sintomas de parkinsonismo em indivíduos normais, se administrada em doses elevadas. A "síndrome da reserpina" semelhante ao parkinsonismo não desaparece após aplicação sistêmica de dopamina ou de outras monoaminas, porque elas não são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e, portanto, são incapazes de restabelecer as concentrações destas monoaminas no SNC. No entanto, L-dopa, o precursor da dopamina, pode cruzar esta barreira permitindo a remissão temporária dos sintomas da doença de Parkinson<sup>[6]</sup>.

Pesquisas mostram que com o decorrer do tempo, os receptores dopaminérgicos dos neurônios do estriado, onde estão cerca de 80% dos estoques de dopamina, diminuem gradativamente de sensibilidade, portanto, a terapia com L-dopa tem se mostrado menos eficaz naqueles pacientes que já tem a doença há muito tempo (10 anos ou mais)<sup>[6]</sup>.

A administração de L-dopa a pacientes portadores da doença de Parkinson apresenta os seguintes efeitos colaterais e indesejáveis como: (i) acelerada perda de neurônios da substância negra e (ii) devido à instabilidade apresentada pela molécula, esta pode ser rapidamente oxidada na presença de oxigênio, promovendo assim, a geração de radicais livres. A produção de radicais livres pode levar ao estresse oxidativo, peroxidação de lipídios das membranas e disfunção mitocondrial, ocasionando a morte<sup>[18]</sup>

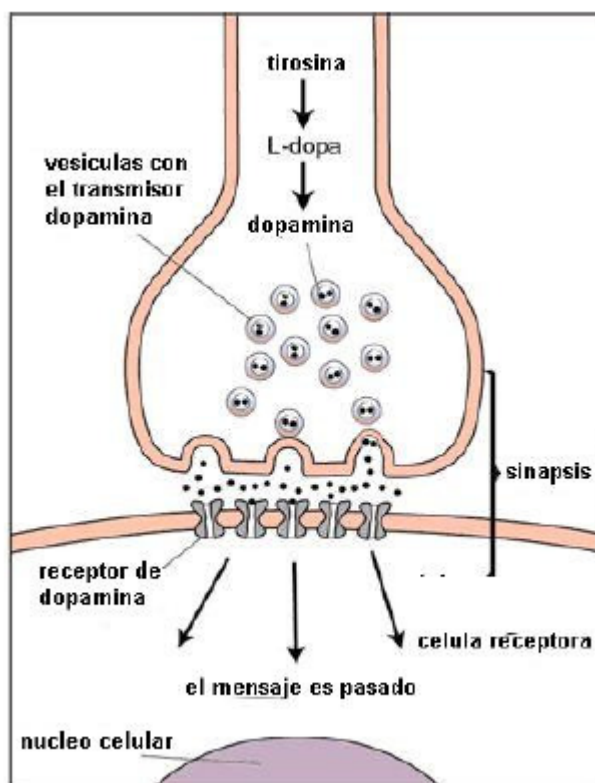
A L-dopa oxidada por (O<sub>2</sub>) ou pela ação oxidativas de enzimas, pode produzir semiquinonas, o-quinonas e diversos radicais livres como, peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). *In vitro*, a autooxidação da L-dopa, tem mostrado a geração de metabólitos que causa estresse oxidativo levando a uma destruição neuronal e necrose celular<sup>[18]</sup>.

## 1.5 DOPAMINA



**Figura 4** - Estrutura molecular de Dopamina

Dopamina ( $C_8H_{11}NO_2$ ), é uma catecolamina neurotransmissora derivada da L-dopa, distribuída por todo cérebro.



**Figura 5** - Representação de liberação da Dopamina atravessando a fenda sináptica e chegando a seu receptor<sup>[21]</sup>.

A dopamina em solução neutra é representada em sua forma protonada e descrita como  $H_2DAH^+$ , na qual o grupo fenólico é escrito na esquerda de H.

Seu mecanismo da constante de equilíbrio é descrita abaixo, (Note que nesta configuração da dopamina é descrito como  $H_3DA^+$ , sem diferenciações entre os hidrogênios). Estudos mostram que a primeira constante de estabilidade de dissociação da dopamina é baixo (Tabela 1), ou seja facilmente oxidado e também dependente da presença das variáveis: luz e oxigênio (Figura 6), assim há diferenças no equilíbrio ácido-base <sup>[22]</sup>.

**Tabela 1** - Valores das constantes de dissociação da espécie Dopamina na literatura

Referências	pK <sub>a1</sub> H <sub>3</sub> DA <sup>+</sup>	pK <sub>a2</sub> H <sub>2</sub> DA	pK <sub>a3</sub> HDA <sup>-</sup>
I.F. Sedeh <sup>a</sup>	8,93	10,49	---
V. Zelano <sup>b</sup>	8,88	10,41	---
K. Rajan <sup>c</sup>	8,96	10,50	---
T. Kiss <sup>d</sup>	8,89	10,41	13,10
C. Gerard <sup>e</sup>	9,05	10,55	12,81
B. Grgas-Kuznar <sup>f</sup>	9,06	10,60	12,05
Sanchez –Rivera <sup>g</sup>	9,05	10,58	12,07
Kiss and Martin <sup>h</sup>	8,01	12,37	13,7

[a] I.F. Sedeh, S. Sjoberg, L.O. Ohman, J. Inorg. Biochem. 50 (1993).119-132.

[b] V. Zelano, O. Zerbinati, G. Ostacoli, Ann. Chim. (Rome) 78 (1988).273-283.

[c] K.S. Rajan, A. Skripkus, G. Marks, J.M. Davies, Bioinorg. Chem. 6 (1976).93-117.

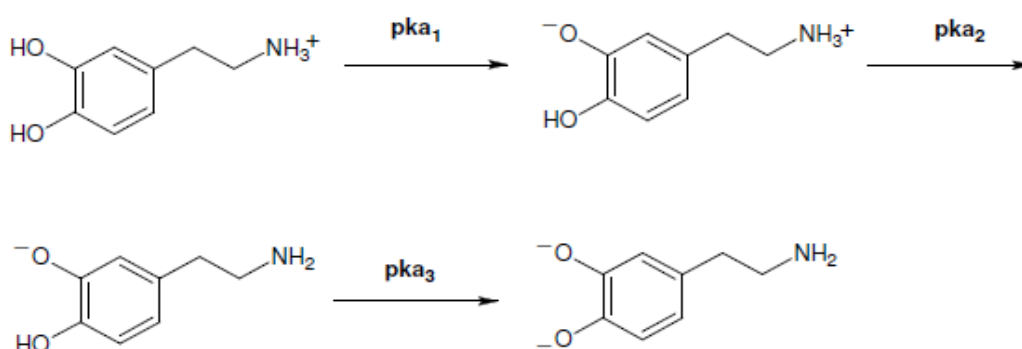
[d] T. Kiss, A. Gergely, Inorg. Chim. Acta 36 (1979).31-36.

[e] C. Gerard, H. Chehhal, R.P. Hugel, Polyhedron 13 (1994).591-597.

[f] B. Grgas-Kuzna, V.L. Simeon, O.A. Weber, J. Inorg. Nucl. Chem. 36 (1974).2151-2154.

[g] RONALD, D., SNYDER, M. B. F. Mutation Research. N° 405, p 1–8,1998.

[h] PALOP, S. G. R., CALATAYUD, A.M. J. M.. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. N° 27, p 1017–1025. 2002



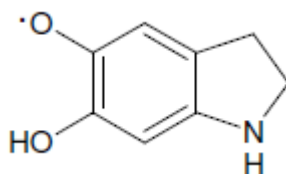
**Figura 6** - Mecanismo proposto de deprotonação da Dopamina por Sanchez-Rivera et al, 2003[22].

### 1.5.1 Oxidação da Dopamina sem Metal

Em neurônios dopaminérgicos, o estoque de dopamina intracelular situa-se nas vesículas para que ocorra as neurotransmissões. O pH baixo dentro dessas vesículas não deixa a oxidação se estabelecer, portanto a estrutura catecol da dopamina se mantém ao invés da estrutura o-quinona aminocromo. Uma possível causa da dopamina agir com neurotoxicidade, é a capacidade de induzir a formação de espécies reativas durante a oxidação à radicais <sup>[23]</sup>. A oxidação de dopamina à dopamina o-quinona, se dá após alguns passos de oxidações onde ocorre ciclização do anel (aminocromo) em pH fisiológico. As evidências dessa oxidação que ocorre *in vivo* são: (i) a existência de polimerização para formação da neuromelanina na substância negra, na qual acumula-se com o tempo no citoplasma do neurônio causando toxicidade para células e gerando como característica, pigmentações escuras nas células. (ii) subprodutos da cisteína como, 5-cisteína-dopamina e quinonas, tem sido encontrada em ratos, porcos da guinéa e também em cérebros humanos <sup>[23,24]</sup>.

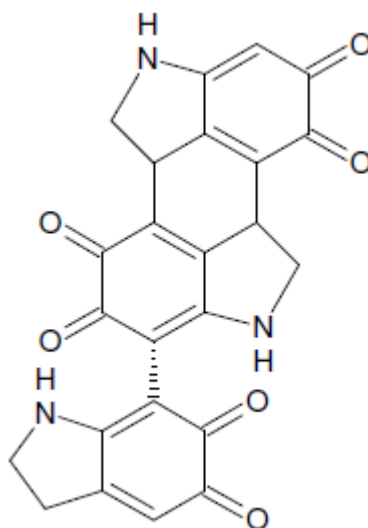
A saturação de dopamina de dentro das vesículas e pela ação da mono-amina oxidase (MAO) permite a oxidação à aminocromo não tóxicos, mas com a redução de um elétron, induz a neurotoxicidade gerando o radical leucoaminocromo o-semiquinona <sup>[25]</sup>.

A neurotoxicidade é dependente da alta reatividade do radical leucoaminocromo o-semiquinona (Figura 7) com oxigênio, que gera um ciclo redox com formação concomitante de reações intracelulares com espécies reativas de oxigênio <sup>[23]</sup>.



**Figura 7** - Estrutura molecular de Leucoaminocromo o-semiquinona.

Após oxidação do o-semiquinona radical, teremos uma forma polimérica insolúvel, conhecida como melanina ou neuromelanina em neurônios dopaminérgicos<sup>[26]</sup>.



**Figura 8** - Estrutura molecular de Melanina<sup>(26)</sup>.

### 1.5.2 Oxidação da Dopamina com Metal

Acredita-se que a doença de Parkinson seja causada, por uma redução no nível do neurotransmissor dopamina, situada no núcleo do caudado, onde ocorre a morte de mais de 80% das células dopaminérgicas da substância negra<sup>[24]</sup>. A exposição a um metal, particularmente o manganês, é um fator que pode contribuir para o processo de degeneração dos neurônios nigrais. O manganês apresenta ação catalisadora na oxidação da dopamina, dando sustentação a esta hipótese<sup>[27]</sup>. Um processo semelhante ocorre quando metais de transição são inseridos em reação, tais como o  $Mn^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Cu^{2+}$  onde há formação de radicais que são subprodutos de reação que, acredita-se sejam os responsáveis pela destruição das células dopaminérgicas, necrose e morte celular tendo como produto final, melanina<sup>[24,27]</sup>. Nesse processo a dopamina é oxidada em várias etapas produzindo finalmente a melanina, um polímero insolúvel de estrutura complexa como mostrado na Figura 8. Este processo pode ser acelerado por metais de transição, especialmente o  $Mn^{3+}$ <sup>[24]</sup>. Representado pelo Esquema 2.



A oxidação de soluções aquosas de adrenalina e de noradrenalina em um ambiente aerado conduz a uma mudança relevante na intensidade de fluorescência<sup>[28]</sup>. Adrenalina e noradrenalina (Figura 9A e 9B) são ditas ortofenóis, ou seja, contêm um grupo hidroxila na posição  $\alpha$ , sendo fortes agentes redutores, isto quer dizer que são facilmente oxidados por diferentes oxidantes como: iodo, hexacianoferrato de potássio, persulfato de potássio, dióxido de magnésio e oxigênio molecular<sup>[28]</sup>. Alguns autores descobriram que dopa, dopamina, noradrenalina, adrenalina e 5-idroxitiramina podem servir como substratos para síntese de neuromelanina<sup>[25]</sup>.

Em determinadas condições, a oxidação da adrenalina pelo oxigênio molecular (adrenalina  $\rightarrow$  adrenoquinona  $\rightarrow$  adrenocromo) conduz à formação de um material insolúvel acastanhado de estrutura indefinida, chamada de neuromelanina. A reação de adrenalina com oxigênio molecular é extremamente complexa, podendo ocorrer com ou sem a presença de metais, ocasionando à formação de radicais livres<sup>[24,28]</sup>. Estudos mostram a estabilidade da constante de dissociação da noradrenalina (tabela 2) e adrenalina (tabela 3). As catecolaminas são facilmente oxidadas e dependentes das quantidades de luz e oxigênio<sup>[28,29]</sup>.

**Tabela 2** - Valores das constantes de dissociação da Noradrenalina encontradas na literatura

Referências	pK <sub>a1</sub> H <sub>3</sub> DA <sup>+</sup>	pK <sub>a2</sub> H <sub>2</sub> DA	pK <sub>a3</sub> HDA <sup>-</sup>
Gergely.A, et al <sup>[a]</sup>	8,58	9,53	12,90
Jameson, R.F. <sup>[b]</sup>	8,64	9,70	13,00
Martin, R.B. <sup>[c]</sup>	8,73	9,78	---
Grgas-Kuznan, B. <sup>[d]</sup>	8,73	9,59	11,56

[a] GERGELY, A., KISS, T., DEAK, G., SOVAGO, I.,. Inorganica Chimica Acta, (1981).

[b] Jameson, R.F. and Neillie, W.F.S, J.Chem. Soc., 2391 (1965).

[c] Martin, R.B., J. Phys. Chem., 75, 2657 (1971).

[d] Grgas-Kuznan, B. Simeon, V.L. and Weber, D.A., J. Inorg. Nucl. Chem., 36, 2151 (1974).

**Tabela 3** - Valores das constantes de dissociação da Adrenalina encontradas na literatura

Referências	pK <sub>a1</sub> H <sub>3</sub> DA <sup>+</sup>	pK <sub>a2</sub> H <sub>2</sub> DA	pK <sub>a3</sub> HDA <sup>-</sup>
Gergely.A, et al <sup>a</sup>	8,64	9,84	13,01
Jameson, R.F. <sup>[b]</sup>	8,66	9,95	13,00
Martin, R.B. <sup>[c]</sup>	8,71	9,90	---
Grgas-Kuznan, B. <sup>[d]</sup>	8,52	10,04	11,99

[a] GERGELY, A., KISS, T., DEAK, G., SOVAGO, I., Inorganica Chimica Acta, (1981).

[b] Jameson, R.F. and Neillie, W.F.S, J.Chem. Soc., 2391 (1965).

[c] Martin, R.B., J. Phys. Chem., 75, 2657 (1971).

[d] Grgas-Kuznan, B. Simeon, V.L. and Weber, D.A., J. Inorg. Nucl. Chem., 36, 2151 (1974).

### 1.6.1 Oxidação de Noradrenalina e Adrenalina com cobre

As interações entre metais de transição e catecolaminas são de especial interesse por possível participação nas doenças neurodegenerativas como, doenças de Parkinson e Wilson<sup>[30,31]</sup>. É sabido que os íons Cu(II) em presença de oxigênio promove a oxidação de adrenalina para adrenocromo e noradrenalina para noradrenocromo e esta conversão depende da formação do complexo Cu(II)-catecolamina. El-Ayaan et al <sup>[31]</sup> estudou o complexo de noradrenalina e ferro(III), que indicou espécies oxidadas de noradrenalina com absorção em 380 nm.

O entendimento do mecanismo de oxidação das catecolaminas por íons Cu(II) e enzimas contendo cobre, requer a caracterização do íon nestes complexos. A participação da ação catalítica do íon cobre nos processos enzimáticos é indicada por descoloração, onde a cor azulada do cobre desaparece quando se adiciona um excesso de catecolamina. Foi sugerido que a mudança da valência do cobre partindo do estado cúprico (II) para o estado cuproso (I) é devido à transferência de elétrons das catecolaminas<sup>[32]</sup>. O mesmo acontece com uma reação contendo noradrenalina e íons ferro(III). No primeiro momento, íons ferro(III) reduzem à ferro(II), com formação de semiquinona. Por fim, temos o complexo com íons ferro(III) restabelecidos e oxidação de semiquinona à noradrenoquinona <sup>[31]</sup>.

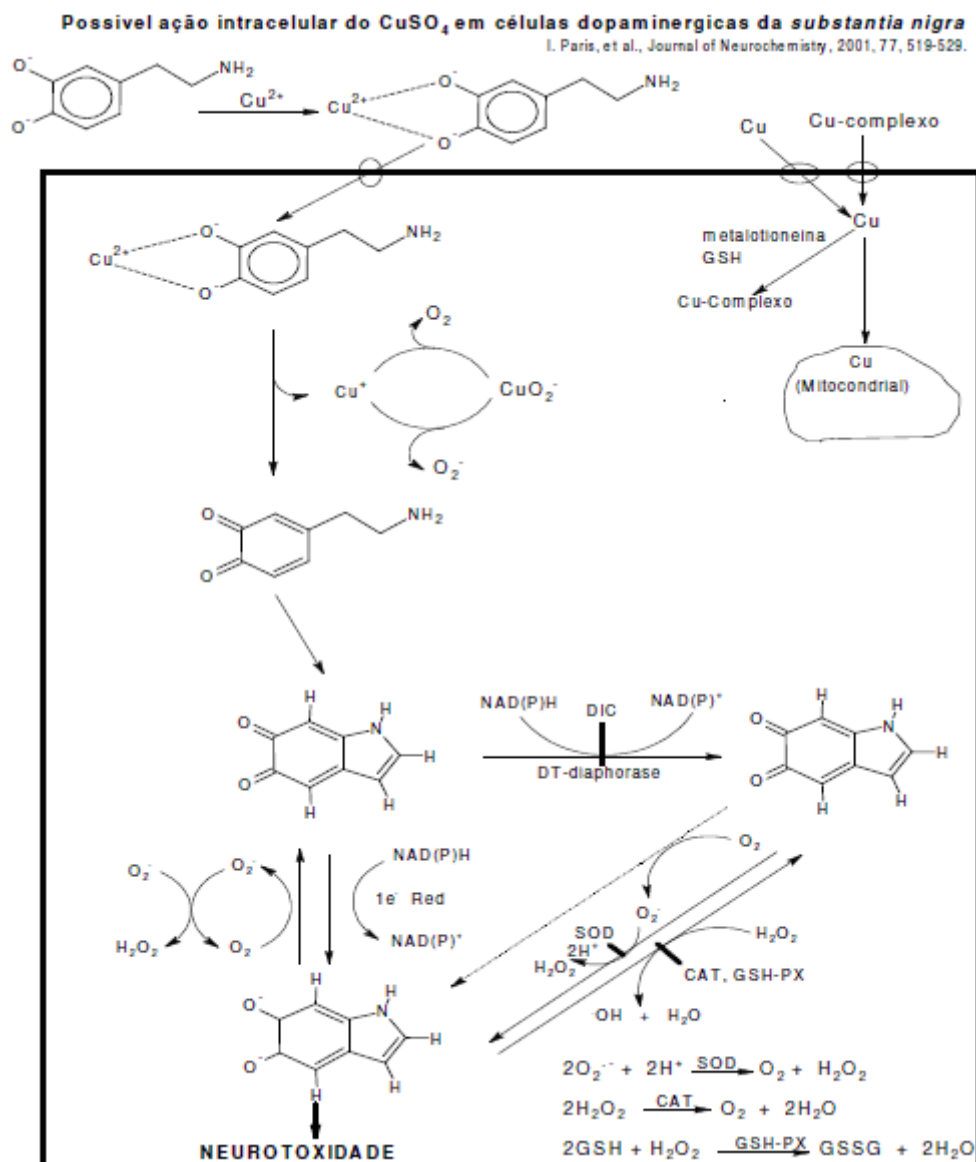
## 1.7 Cobre e Doença de Wilson

O cobre é um elemento que faz parte de várias moléculas com funções específicas nas vias metabólicas, para a constituição das células, como cofator de enzimas, incluindo o citocromo oxidase, CuZn-superoxido dismutase, lisina oxidase, dopamina- $\beta$ -hidroxilase e ceruloplasmina. Uma das moléculas que contém cobre e desempenha importante função no organismo humano é a ceruloplasmina. A ceruloplasmina é uma glicoproteína sintetizada no fígado e que contém 6 átomos de cobre por molécula. Falhas no transporte intracelular de cobre levam a uma diminuição na incorporação de cobre na ceruloplasmina. Acredita-se que a ausência de cobre na ceruloplasmina deixe a molécula mais instável, sendo o motivo pelo qual o nível circulante de ceruloplasmina nos pacientes com Doença de Wilson está abaixo do normal<sup>[33]</sup>.

Dois desordens genéticas, Doença de Menkes (deficiência de  $\text{Cu}^{2+}$ ) e Doença de Wilson (toxicidade de  $\text{Cu}^{2+}$ ), estão relacionadas com a disfunção do cobre no transporte de proteínas<sup>[34]</sup>. A absorção de cobre proveniente da dieta alimentar acima das quantidades diárias necessárias, acarreta a excreção do cobre dos hepatócitos para a bile que é essencial para a manutenção da homeostase deste metal no organismo<sup>[35]</sup>. Um organismo é dito em homeostase quando em seu meio interno (fluido entre as células) contém as condições apropriadas de concentração das substâncias químicas, temperatura e pressão. Quando esta homeostase é perturbada pode resultar em doenças e se os fluidos corporais não forem trazidos de volta a homeostase, pode ocorrer morte. Aparentemente o gene *ATP7B*, presente no complexo de Golgi, é essencial para regular o transporte do cobre através das membranas das organelas intracelulares. A ausência ou mutação do gene *ATP7B* diminui a excreção hepática de cobre e quando o acúmulo deste metal no fígado é excedido ou quando existe dano hepatocelular, há liberação de cobre na circulação e o nível de cobre não ligado à ceruloplasmina torna-se elevado. Este cobre circulante deposita-se em tecidos extra-hepáticos, sendo que um dos principais locais para a sua deposição é o cérebro, causando dano neuronal e sendo responsável pelas manifestações neurológicas e psiquiátricas da doença de Wilson (DW)<sup>[33]</sup>. A DW é hereditária, com incidência de 1 pessoa em 30.000 na maioria da população mundial sendo predominante para o sexo masculino<sup>[36]</sup>, havendo

correlação entre a doença e o acúmulo de cobre nos tecidos<sup>[37]</sup>. Os problemas hepáticos observados na DW começam com hepatite, culminando com cirrose e carcinoma hepatocelular, enquanto que os problemas neurológicos são; demência, desordem de comportamento, ou psicoses, tremor das mãos, perda de coordenação dos movimentos musculares voluntários (ataxia), e rigidez. Indícios de sintomas neurológicos e hepáticos, proveniente da acumulação de  $\text{Cu}^{2+}$ , causam a degeneração ou destruição de terminais pré-sinápticos de neurônios dopaminérgicos, na qual tem sido detectado em pacientes com DW, muito semelhantes aos parkinsonianos<sup>[38,39]</sup>.

Quando em excesso, o cobre no interior das células pode se complexar com a dopamina, sofrendo posterior oxidação pelo oxigênio, possibilitando a formação de substâncias radiculares que destroem células dopaminérgicas, diminuindo a produção de dopamina. Muitas investigações para a elucidação do papel do cobre no mecanismo químico que causa a doença de Wilson são realizadas atualmente e uma das propostas mais recentes, é apresentada no Esquema 3 abaixo<sup>[40]</sup>.



**Esquema 3** - Mecanismo proposto por (PARIS et al, 2001) para explicar a neurotoxicidade do íon cobre nas células<sup>[40]</sup>.

### 1.8 (Ressonância Paramagnética Eletrônica) EPR

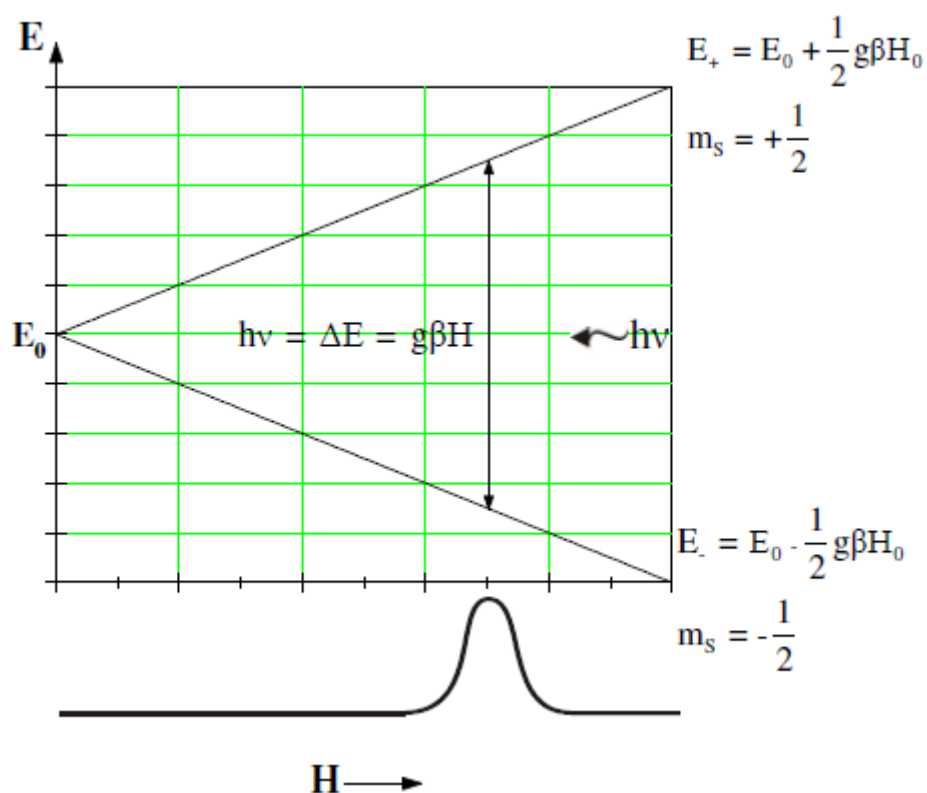
Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) ou Ressonância de Spin Eletrônico (RSE) é um método físico observado na ressonância de elétrons desemparelhados devido à absorção de microondas em um campo magnético externo. RPE foi descoberta por Zavoiski (1945) por meio de transições em sais de íons metálicos e foi desenvolvida após a 2ª Guerra Mundial. Desde que foi descoberta, a espectroscopia de RPE desenvolveu-se rapidamente e vem sendo

aplicada em um grande número de áreas de pesquisa. Essencialmente, ela forma um ramo da espectroscopia de alta resolução usando frequências na região de microondas<sup>[41]</sup>. Ela é também considerada uma ferramenta extremamente valiosa em pesquisa de cristais, líquidos, gases, semicondutores, sistemas biológicos, fósseis, etc. sendo utilizada para analisar as estruturas químicas de radicais livres, alguns metais de transição, defeitos em metais e esclarecer os mecanismos de ligações envolvidos[42]. Ela pode ser caracterizada por emissão, absorção ou radiação de energia com frequências específicas, que distinguem a matéria analisada<sup>[43]</sup>.

Um sistema paramagnético se caracteriza por apresentar, na ausência de um campo magnético, degenerescência no seu estado fundamental. Com aplicação do campo magnético, essa degenerescência é removida. A amostra é então submetida a um campo eletromagnético oscilante cuja frequência é fixa, normalmente na faixa de microondas. O campo magnético é variado até que a separação entre os níveis de energia cumpra a condição de ressonância:  $h\nu = g\beta H$  onde  $\nu$  é a frequência da microonda,  $h$  é a constante de Planck e  $\beta$  é o magnéton de Bohr. Tal condição determina o fator espectroscópico  $g$  da transição observada<sup>[44]</sup>.

#### *Fator espectroscópico ou fator $g$*

O fator espectroscópico de um sinal de RPE é um parâmetro importante, visto que elétrons desemparelhados em diferentes ambientes, possuem valores ligeiramente diferentes para tal parâmetro<sup>[45]</sup>. Se uma energia de microonda incide sobre um elétron desemparelhado com uma frequência igual à frequência de precessão do seu vetor momento magnético, esta excitará alguns elétrons do nível de energia mais baixo para o nível de energia mais elevado. Inicialmente, haverá mais elétrons no nível de energia mais baixo (isto é, paralelo ao campo) do que no nível superior (antiparalelo). A transição entre os níveis de energia só ocorrerá quando a condição de ressonância for satisfeita, figura 10<sup>[46]</sup>.



**Figura 10** - Representação esquemática da condição de ressonância e seu respectivo espectro eletrônico<sup>[47]</sup>.

O fator  $g$  é o coeficiente do momento magnético para o momento angular, expresso em unidades adimensionais<sup>[48]</sup>. Sendo seu valor de 2,0023 que corresponde ao elétron livre.

### 1.9 Espectroscopia Infravermelho e Raman ressonante

#### *Infravermelho*

A radiação no infravermelho foi descoberto em 1800 por William Herschel, astrônomo inglês de origem alemã. Herschel colocou um termômetro de mercúrio no espectro obtido por um prisma de cristal com o a finalidade de medir o calor emitido por cada cor. Descobriu que o calor era mais forte ao lado do vermelho do espectro, observando que ali não havia luz. Esta foi a primeira experiência que

demonstrou que o calor pode ser captado em forma de imagem, como acontece com a luz visível<sup>[49]</sup>.

A espectrometria de infravermelho consiste na absorção (ou emissão) de radiação por um sistema, e devido a essa variação periódica de seu momento de dipolo elétrico, a frequência absorvida (ou emitida) será idêntica à oscilação do dipolo. Assim, desde que o momento de dipolo  $\mu$ , ou uma de suas três componentes, possa oscilar com a mesma frequência de uma radiação incidente, a molécula absorverá esta radiação<sup>[50]</sup>.

### *Raman*

O físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman descobriu que o comprimento de onda visível de uma pequena fração da radiação espalhada por certas moléculas, difere daquele do feixe incidente e que os deslocamentos de comprimento de onda dependem da estrutura química das moléculas responsáveis pelo espalhamento. O espalhamento Raman é um fenômeno que mostra alterações vibracionais quantizadas associadas à absorção na faixa do infravermelho. Assim, a diferença de comprimento de onda entre a radiação visível incidente e a espalhada corresponde a comprimentos de onda na região do infravermelho médio<sup>[49]</sup>.

O espectro Raman é devido ao espalhamento inelástico de uma radiação monocromática que incide numa molécula. Embora, como resultado a molécula possa passar de um estado vibracional para outro, o fenômeno é fisicamente diferente da absorção de radiação e deve-se esperar que as regras de seleção sejam diferentes das consideradas na espectroscopia de infravermelho. No efeito Raman a ocorrência do fenômeno esta ligada ao momento dipolo induzido na molécula pelo campo elétrico da radiação, diferentemente do infravermelho onde se considera o momento dipolar intrínseco, ou melhor, a variação deste momento com a vibração<sup>[50]</sup>.

De fato, o espectro do espalhamento Raman e o espectro de absorção no infravermelho de uma determinada espécie se assemelham muito. Há, no entanto, diferenças suficientes entre os grupos ativos no infravermelho e no Raman para tornar essas técnicas complementares e não competitivas<sup>[49]</sup>.

### *Raman Ressonante*

O espalhamento Raman ressonante refere-se a um fenômeno em que as intensidades das linhas Raman são altamente intensificadas por excitação em comprimentos de onda que se aproximam muito de um pico de absorção eletrônico de um analito. Nessa circunstância, as magnitudes dos picos Raman associados às vibrações mais simétricas são aumentadas por um fator de  $10^2$  a  $10^6$ . Como consequência, espectros Raman ressonantes tem sido obtidos em concentrações de analitos de até  $10^{-8}$  M. Esse nível de sensibilidade contrasta com os estudos de Raman normais, que são normalmente limitados a concentrações maiores que 0,1 M. Como a intensificação das bandas Raman está restrita às bandas associadas com o cromóforo, os espectros Raman ressonantes usualmente consistem de apenas poucas linhas. Mais ainda, espectros Raman ressonantes podem ser obtidos muito seletivamente porque a excitação pode ser dirigida a bandas de absorção específicas. As intensidades das linhas em um experimento de Raman ressonante aumentam rapidamente à medida que o comprimento de onda de excitação se aproxima do comprimento de onda do pico de absorção eletrônico. Assim, para se conseguir uma melhor intensificação para uma faixa larga de máximos de absorção, é necessário um laser sintonizável. Talvez a aplicação mais importante da espectroscopia Raman ressonante seja o estudo de moléculas biológicas em condições significativas, ou seja, na presença de água em níveis de concentrações baixos ou moderados<sup>[49]</sup>.

#### 1.10 UV-vis

A espectroscopia de absorção da radiação eletromagnética compreende a faixa do ultravioleta e visível (UV-Vis), entre 200 nm e 900 nm. Medidas de absorção na radiação UV-Vis têm ampla aplicação na determinação quantitativa de uma grande variedade de espécies inorgânicas e orgânicas<sup>[49]</sup>.

A espectroscopia de absorção molecular está baseada na medida da transmitância  $T$ , ou absorvância  $A$ , de soluções contidas em células transparentes tendo um caminho óptico de  $b$  em cm. Portanto, quando um feixe de radiação

monocromática atravessa uma solução que contenha uma espécie absorvente, uma parte da energia radiante é absorvida, enquanto a outra é transmitida pelo meio. Chama-se potência radiante de um feixe de radiação colimado à quantidade de energia transportada pelo feixe por segundo. A razão entre a potência radiante do feixe transmitido  $P$  e a do feixe incidente  $P_0$  é a transmitância  $T$  para o comprimento de onda da radiação (e a espessura da camada líquida).

$$T = P_0 / P$$

A transmitância é a fração da energia radiante incidente transmitida pela solução. É, também, usual expressar a transmitância percentualmente;

$$\%T = (P / P_0) \times 100$$

De forma comum, a concentração  $c$  de um analito absorvente está relacionada linearmente à absorvância, conforme representado pela equação;

$$A = -\log T = \log (P_0 / P) = \epsilon b c$$

Na qual  $b$  caminho óptico em cm e  $\epsilon$  é absorvidade molar. Essa equação é uma representação matemática da lei de Beer. A distribuição espectral da energia radiante absorvida por uma espécie molecular pode ser descrita mediante lançamento dos valores da transmitância em função do comprimento de onda da radiação<sup>[49]</sup>.

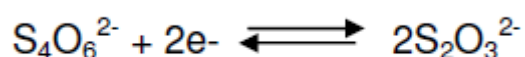
### 1.11 ELETRODO DE PLATINA E DIAGRAMA DE POURBAIX

Os métodos potenciométricos de análise estão baseados em medidas do potencial de células eletroquímicas na ausência de correntes apreciáveis. Desde o início do século 20, técnicas potenciométricas tem sido usadas

para a localização de pontos finais em métodos de análises titulométricas. Os métodos de origem mais recentes são aqueles nos quais as concentrações iônicas são obtidas diretamente do potencial de um eletrodo de membrana seletiva de íons. Esses eletrodos são relativamente livres de interferência e fornecem um meio rápido e conveniente de estimativa quantitativas de um grande número de ânions e cátions importantes. O equipamento necessário para os métodos potenciométricos inclui, eletrodo de referência, eletrodo indicador e um dispositivo de medida de potencial. Um eletrodo indicador ideal tem resposta rápida e reproduzível a variações na atividade do íon que está sendo analisada. Embora nenhum eletrodo indicador seja absolutamente específico na resposta, estão disponíveis alguns com acentuada seletividade. Eletrodos de platina, ouro, paládio ou de outros metais inertes servem como eletrodos indicadores para sistema de oxidação/redução. Nessas aplicações, o eletrodo inerte atua como fonte ou depósito para elétrons transferidos de um sistema redox na solução. Por exemplo, o potencial de um eletrodo de platina em uma solução contendo íons Ce(III) e Ce(IV) é dado por

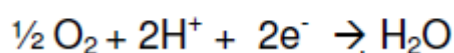
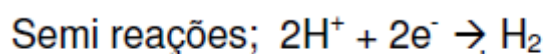
$$E_{ind} = E^0 - 0,0592 \log \frac{a_{Ce^{3+}}}{a_{Ce^{4+}}}$$

Assim um eletrodo de platina pode servir como um eletrodo indicador em uma titulação na qual Ce(IV) atua como reagente padrão. Entretanto, deve se observar que os processos de transferência de elétrons em eletrodos inertes frequentemente não são reversíveis. Conseqüentemente, eletrodos inertes não respondem de modo previsível a muitas das semi-reações encontradas em uma tabela de potenciais de eletrodo. Por exemplo, um eletrodo de platina imerso em uma solução de íons tiosulfato e tetrationato não desenvolve potenciais reproduzíveis porque o processo de transferência de elétrons é lento e, portanto, não reversível na superfície do eletrodo<sup>[49]</sup>.



## Pourbaix

Os diagramas de Pourbaix, desenvolvidos por Marcel Pourbaix, são diagramas nos quais se relaciona o potencial de um dado metal com o pH da solução, e assim permite prever se o metal apresenta ou não tendência para se oxidar ou reduzir nesse meio. Os diagramas de Pourbaix são representados por equilíbrios eletroquímicos que traduzem reações de redução em meios aquosos oxigenados ou não.



As linhas que delimitam as várias regiões de estabilidade traduzem os equilíbrios químicos e eletroquímicos que podem existir entre o metal e o eletrólito.

- Reações eletroquímicas que não envolvem  $\text{H}^+$  → originam linhas horizontais
- Reações eletroquímicas que envolvem  $\text{H}^+$  → originam linhas oblíquas
- Reações químicas → originam linhas verticais

### Limitações dos diagramas de Pourbaix;

- Pressupõem que todas as reações consideradas são reversíveis e rápidas, o que nem sempre acontece.
- Não informam sobre a cinética dos processos (velocidades das reações) apenas indicando se uma reação é ou não termodinamicamente possível.
- Apenas são aplicados a metais puros (não existem para ligas) e em soluções sem espécies complexantes ou que formem sais insolúveis<sup>[53]</sup>.

## 2 OBJETIVOS

- Estudar a reação entre Cu(II) e as catecolaminas: dopamina, Lopa, noradrenalina e adrenalina, em solução aquosa na presença de tiosulfato de sódio.
- Determinar a estrutura dos produtos de reação formados.
- Propor um mecanismo para a reação do Cu(II) e as catecolaminas.
- Verificar se há especificidade do Cobre ao reagir com as diferentes catecolaminas (Dopamina, L-Dopa, Adrenalina e Noradrenalina).

### 3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1 MATERIAIS

- Cubeta de quartzo – Starna;
- Micro-pipeta de 1000  $\mu$ L – Gilson;
- Pipeta volumétrica 0,5, 1, 3 mL– Pirex
- Funil de separação de 250 mL – Vidrolabor
- Placa aquecedora com agitação magnética. – Fisaton
- Béqueres 25, 50 e 600 mL-Vidrolabor
- Balões volumétricos 10 e 25 mL ( Incoterm)
- Balões volumétricos 25, 50 e 500 mL ( Vidrolabor)

#### 3.2 EQUIPAMENTOS

- Espectrofotômetro UV-Vis Milton Roy, Spectronic Genesys 2;
- pHmetro Hanna HI 9321 com microprocessador;
- Eletrodo de Eh (Marte-Equipamentos);
- Balança Analítica Bosch SAE 200;
- Balança Semi-Analítica Gehaka BG 2000;
- Espectrômetro de Ressonância Paramagnética Eletrônica, Jeol, modelo JES-PE 3X, operando na banda X e frequência 9,6 GHz;
- Análise Elementar Espectrômetro Perkin Elmer do Instituto de Química-USP-SP;
- Espectrofotômetro de Absorção Atômica Shimadzu AA-6601F;
- Espectrômetro Renishaw Raman System 3000, equipado com microscópio metalúrgico Olympus BH2-UMA com objetiva de 50x de aumento;
- Espectrômetro Raman Jobin-Yvon U-1000;
- Espectrofotômetro FT-IR NEXUS mod 470

- Purificador de água USF Elga Mod. Máxima;
- Aparelho Ultra-Sônico Thornton T7;
- Oxímetro Orion modelo 810
- Software de cálculo de propriedades moleculares Spartan 06

### 3.3 REAGENTES

- Dopamina (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>HCl) (Aldrich Chem. Co., 98% M.M. 189,64 g mol<sup>-1</sup>);
- L-dopa (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>) (Aldrich Chem. Co. 99% M.M 197,19 g mol<sup>-1</sup>);
- Adrenalina (C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>) (Sigma-Aldrich. Co. 98% M.M. 183,21 g mol<sup>-1</sup>);
- Noradrenalina (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>.C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>.H<sub>2</sub>O) (Sigma-Aldrich. Co. 99% M.M 337,30 g mol<sup>-1</sup>);
- Nitrato de cobre (II) trihidratado (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).3H<sub>2</sub>O) (Vetec 98% M.M. 241,60 g mol<sup>-1</sup>);
- Tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (Aldrich Chem. Co. 99% M.M 158,11 g mol<sup>-1</sup>);
- Brometo de hexadeciltrimetilamônio (C<sub>19</sub>H<sub>42</sub>BrN) (Fluka Chemika 98% M.M. 364,46 g mol<sup>-1</sup>);
- Clorofórmio (Synth 99,8% M.M 119,38 g mol<sup>-1</sup>);
- KBr (Carlo Erba 99% M.M 119,01 g mol<sup>-1</sup>);
- Tolueno (Omniselv 99,99% M.M 92,14 g mol<sup>-1</sup>);
- Solução padrão de Cu 1000 ppm (Merck);
- Ácido Nítrico (Biotec 65% M.M 63,01 g mol<sup>-1</sup>);
- Água ultrapura;
- Gás oxigênio (White Martins, 99,5%, M.M 32 g mol<sup>-1</sup>, vazão 0,5 L min<sup>-1</sup>).

### 3.4 PREPARO DOS MEIOS REACIONAIS

#### 3.4.1 Solução A (Dopamina + Tiosulfato de Sódio)

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de dopamina e 0,3047 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Foram medidos o pH e Eh durante todo o tempo de reação, até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.2 Solução B (Dopamina + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de dopamina e 0,0437 g de nitrato de cobre(II), adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Foram medidos o pH e Eh durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.3 Solução C (Dopamina + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de dopamina e 0,3047 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um

béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Em seguida adicionou-se 0,0437 g de nitrato de cobre (II) na solução que foi acompanhado por espectrofotometria UV-Vis. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o tempo de reação até completar 200 horas de reação, a 25°C.

As quantidades dos reagentes utilizadas foram calculadas de tal forma que a concentração de dopamina (ligante) fosse 3 vezes maior que a concentração do metal (cobre) e a concentração de tiosulfato 3,5 vezes maior que a de dopamina. O término da reação (144 horas) foi determinado após não haver mais variações no espectro de absorção UV-Vis.

#### 3.4.4 Solução D (L-dopa + Tiosulfato de Sódio)

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de L-dopa e 0,3047g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.5 Solução E (L-dopa + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de L-dopa e 0,0421 g de nitrato de cobre(II), adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer

de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água pura como branco em todas as medidas. Foram realizadas medidas de pH e Eh durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.6 Solução F (L-dopa + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de L-dopa e 0,3047 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Em seguida adicionou-se 0,0421 g de nitrato de cobre (II) na solução que foi acompanhado por espectrofotometria UV-Vis. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o tempo de reação até completar 200 horas de reação, a 25°C.

As quantidades dos reagentes utilizadas foram calculadas de tal forma que a concentração de L-dopa (ligante) fosse 3 vezes maior que a concentração do metal (cobre) e a concentração de tiosulfato 3,5 vezes maior que da L-dopa. O término da reação (170 horas) foi determinado após não haver mais variações no espectro de absorção UV-Vis.

#### 3.4.7 Solução G (Noradrenalina + Tiosulfato de Sódio)

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,05 g de noradrenalina e 0,0835 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa

diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Foram realizadas medidas de pH e Eh durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.8 Solução H (Noradrenalina + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,05 g de noradrenalina e 0,012 g de nitrato de cobre(II), adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Foram realizadas medidas de pH e Eh durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.9 Solução I (Noradrenalina + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,05 g de noradrenalina e 0,0835 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Em seguida adicionou-se 0,012 g de nitrato de cobre (II) na solução que foi acompanhado por espectrofotometria UV-Vis. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o

tempo de reação até completar 130 horas de reação, a 25°C.

As quantidades dos reagentes utilizadas foram calculadas de tal forma que a concentração de noradrenalina (ligante) fosse 3 vezes maior que a concentração do metal (cobre) e a concentração de tiosulfato 3,5 vezes maior que da noradrenalina. O término da reação (120 horas) foi determinado após não haver mais variações no espectro de absorção UV-Vis.

#### 3.4.10 Solução J (Adrenalina + Tiosulfato de Sódio)

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de adrenalina e 0,3177 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200 µL de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Foram realizadas medidas de pH e Eh durante todo o tempo de reação até completar 200 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.11 Solução K (Adrenalina + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de adrenalina e 0,0453 g de nitrato de cobre(II), adicionada 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200 µL de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o tempo de reação até completar 100 horas de reação, a 25 °C.

#### 3.4.12 Solução L (Adrenalina + Tiosulfato de Sódio + Nitrato de Cobre(II))

Para preparo desta solução, utilizou-se 0,1031 g de adrenalina e 0,3177 g de tiosulfato de sódio, adicionados em 500 mL de água ultrapura, em um béquer de 600 mL, deixando a solução com agitação mecânica. Após completa diluição, retirou-se uma alíquota de 200  $\mu$ L de solução e diluiu-se com 3 mL de água ultrapura em cubeta de quartzo de 1,0 cm. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se água como branco em todas as medidas. Em seguida adicionou-se 0,0453 g de nitrato de cobre (II) na solução que foi acompanhada por espectrofotometria UV-Vis. Medidas de pH e Eh foram realizadas durante todo o tempo de reação até completar 200 horas de reação, a 25°C.

As quantidades dos reagentes utilizados foram calculadas de tal forma que a concentração de adrenalina (ligante) fosse 3 vezes maior que a concentração do metal (cobre) e a concentração de tiosulfato 3,5 vezes maior que da adrenalina. O término de reação (125 horas) foi determinado após não haver mais variações no espectro de absorção UV-Vis.

#### 3.4.13 Solução M (CTAB)

Em um béquer contendo 20 mL de água adicionou-se 0,2 g de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB) e a mistura aquecida por 30 minutos a 50 °C, obtendo-se uma solução de concentração  $0,027 \text{ mol L}^{-1}$ .

Os complexos no estado sólido foram obtidos ao se adicionar a solução contendo os complexos de cobre à solução de CTAB. Em seguida separou-se as fases orgânica e aquosa em funil de separação, recolhendo-se a fase orgânica em um béquer que foi mantido à temperatura ambiente até total evaporação do clorofórmio, obtendo-se assim o complexo na forma sólida. Esta substância foi mantida em um dessecador até obtenção dos espectros Raman ressonante e infravermelho.

Esta solução (**M**) também foi utilizada para precipitar os produtos das reações das soluções **C**, **F**, **I** e **L**. Nas demais soluções não houve produto formado.

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

#### 3.5.1 Análise Elementar de CHN e Determinação de Cobre por Espectroscopia de Absorção Atômica

As análises de carbono, hidrogênio e nitrogênio elementar dos complexos obtidos foram realizadas utilizando-se um Analisador de CHN Perkin-Elmer da Central Analítica do Instituto de Química-USP-SP. As análises de cobre por espectroscopia de absorção atômica foram realizadas em Espectrofotômetro de Absorção Atômica SHIMADZU 6601F, com lâmpada de cátodo oco do elemento cobre, emitindo radiação no comprimento de onda de 324,75 nm. As curvas de calibração foram construídas a partir de solução padrão de cobre (Merck 1.000 mg L<sup>-1</sup>) na concentração de 0,5 a 3,5 ppm. Amostras dos complexos com 0,0047 g (dopamina), 0,0063 g (L-dopa), 0,0066 g (adrenalina) e 0,0038 g (noradrenalina) foram digeridas com 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 10 mL de HNO<sub>3</sub> 10%, após digestão diluiu-se com água ultrapura em balão volumétrico de 50 mL.

#### 3.5.2 Obtenção dos Espectros UV-Vis em Clorofórmio

Os espectros UV-Vis das soluções dos complexos sólidos dissolvidos em clorofórmio, de concentração de 10<sup>-3</sup> g.mL<sup>-1</sup>, foram feitas no Espectrofotômetro UV-Vis Milton Roy, Spectronic Genesys 2. Obteve-se o espectro de absorção UV-Vis na região entre 200-900 nm com resolução de 1 nm por ponto de aquisição, utilizando-se clorofórmio como branco das medidas.

### 3.5.3 Espectros no Infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho dos complexos sólidos foram obtidos à temperatura ambiente, no intervalo de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$  e acumulação de 100 espectros (espectrômetro Thermo Nicolet FT-IR). Foram confeccionadas pastilhas de KBr na proporção amostra: KBr de 1:100.

### 3.5.4 Espectros Raman

Foram obtidos os espectros Raman dos complexos sólidos e complexos sólidos dissolvidos em clorofórmio, utilizou-se o espectrômetro Renishaw Raman System 3000, com radiações excitante de 632,8 nm (laser vermelho) e 514,5 nm (laser verde), resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$  e potência 1mW, focalizada por uma objetiva com aumento de 50 vezes de microscópio metalúrgico Olympus BH2-UMA. Os espectros Raman dos complexos em solução aquosa (clorofórmio) foram obtidos pelo Espectrômetro Jobin-Yvon U1000, com excitações nos comprimentos de onda em 647,1 nm (laser vermelho), potência 250 mW e 514,5 nm (laser verde), potência 200 mW para o laser verde, 10 aquisições e resoluções de 4  $\text{cm}^{-1}$  para ambos. Os equipamentos foram utilizados no Laboratório de Espectroscopia Molecular do Instituto de Química da USP-SP.

### 3.5.5 Espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

Os espectros de EPR dos complexos sólidos, soluções  $10^{-3}$  g.mL em clorofórmio (L-dopa) e em tolueno (Dopamina), foram obtidos na frequência de microondas em 9,56 GHz com varreduras de campo magnético entre 2000 e 4500 Gauss (Espectrômetro de Ressonância Paramagnética Eletrônica, Jeol, modelo

JES-PE 3X, operando na banda X). Os espectros de EPR foram obtidos à temperatura ambiente e analisados utilizando-se o software Origin 6.0. Os espectros foram obtidos no laboratório LAFLURPE do Departamento de Química da UEL.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Portal da Medicina. Disponível em <<http://www.members.fortunecity.es>>. acesso em 12 de dezembro de 2006.
- [2] Portal Sigma-Aldrich. Disponível em <<http://www.sigma-aldrich.com>>
- [3] Portal da Medicina. Disponível em <<http://www.sistemanervoso.com>>. acesso em 23 de janeiro de 2007.
- [4] Portal da Medicina Bioquímica. Disponível em <<http://pt.wikipedia.org>>. acesso em 14 de janeiro de 2007.
- [5] EMERY, T. **Exchange of iron by Gallium in Siderophores**. Biochemistry, vol. 25, p. 4629-4633. 1986.
- [6] EYZAGUIRRE, C. M. D., FIDONE, S.J. **Fisiologia do Sistema Nervoso**, 2<sup>a</sup> edição. 1977.
- [7] BARBOSA, L. F., MEDREIROS, M. H. G., AUGUSTO, O. **Danos Oxidativos e Neurodegeneração : O quê aprendemos com animais transgênicos e nocautes ?** Química Nova, Vol. 29, N<sup>o</sup>. 6, p 1352-1360, 2006.
- [8] TERLAN, O., ALMAS, B., FLATMARK, T., ANDERSSON, K.K., SORLIE, M. **One-electron oxidation of catecholamines generates free radicals with an in vitro toxicity correlating with their lifetime**. Free Radical Biology & Medicine. N<sup>o</sup> 41, p 1266–1271. 2006.
- [9] HARTL, F., VLCEK, A, Jr., **Bonding Properties of the 1,2-Semiquinone Radical-Anionic Ligand in the [M(CO)<sub>4</sub>-n(L)n(DBSQ)] Complexes (M= Re, Mn; DBSQ = 3,5-di-tert-butyl-1,2-benzosemiquinone; n= 0,1,2). A Comprehensive Spectroscopic (UV-Vis and IR Absorption, Resonance Raman, EPR) and Electrochemical Study**. Inorg. Chem. N<sup>o</sup> 35, p 1257-1265, 1996.
- [10] DODSWORTH. E. S., LEVER A. B. P. **The use of optical electronegativities to assign electronic spectra os semiquinona complexes**. Chemical Physics Letters. Vol. 172, N<sup>o</sup> 2, p 151-157, 1990.
- [11] ROY, R., CHATTOPADHYAY, P., SINHA, C. **Synthesis, Spectral and electrochemical Studies of arylazopyridine complexes of palladium(ii) with dioxolenos**. Polyhedron. Vol. 15, N<sup>o</sup> 19, p 3361-3369, 1996.
- [12] ZANELLO, P., CORSINI, M. **Homoleptic, mononuclear transition metal complexes of 1,2-dioxolenos: Updating their electrochemical-to-structural (X-ray) properties**. Coordination Chemistry Reviews. N<sup>o</sup> 250, p 2000–2022, 2006.
- [13] RUF, M., DURFEE, W. S., PIERPONT. C. G. **Synthesis of a quinone-funtionalized macrocyclic ligand and the intense fluorescence of its zinc complex**. The Royal Society of Chemistry. p1022 –1023, 2004.

- [14] VLCEK, Jr. A. **Metal and ligand oxidation states in dioxolene complexes: meaning, assignment and control.** Comments Inorg. Chem. Vol. 16, N<sup>o</sup> 4, p 207-228, 1994.
- [15] CHIOU, Y. M., QUE, Jr. **Structure of a mononuclear Iron(III)-Catecholate complex and its relevance to the extradiol-cleaving catecholdioxygenases.** Inorg. Chem., vol. 34, p. 3577-3578, 1995.
- [16] RAYMOND, K. N., GARRETT, T.M.; CASS, M. E. **The Salicylate Mode of Coordination in Ferric Catecholyamides.** Inorg. Chem. Soc., vol.111, p 1677, 1989.
- [17] PIERPONT, C. G., LANGE, C. W. **The Chemistry of Transition Metal Complexes Containing Catechol and semiquinone Ligands.** Prog. Inorg. Chem. Vol. 41, p 331-442, 1994.
- [18] SOLIMAN, M.K., ELIZABETH, M., KARAM, F.A., SOLIMAN, S. **Levodopa modulating effects of inducible nitric oxide synthase and reactive oxygen species in glioma cells.** Life Sciences. N<sup>o</sup>72, p185–198. 2002.
- [19] BARRETO, W. J., ANDO, R.A., SANTOS, P.S., SILVA, W.P. **Preparation, UV-Vis, IR, EPR and resonance Raman study of Fe, Ni, Co and Zn dioxolene complexes.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy (2006), doi:10.1016/j.saa.2006.12.037.
- [20] MACHADO, A. B. M., **Neuroanatomina funcional.** Livraria atheneu, Rio de Janeiro. 1980.
- [21] Disponível em <[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2000/press.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2000/press.html)>. acesso em 08 de outubro de 2007. [50]
- [22] SANCHEZ-RIVERA, A.E., CORONA-AVENDANO, S., ALARCONANGELES, G.A. ROJAS-HERNANDEZ, M.T. RAMIREZ-SILVA, M.A. ROMERO-ROMO,R.R. **Spectrophotometric study on the stability of dopamine and the determination of its acidity constants.** Spectrochimica Acta Part A 59. p 3193-3203. 2003.
- [23] ARRIAGADA, C., PARIS, I., de la MATAS, M, J., ALVARADO, P, M., CARDENAS, S., CASTANEDA, P., GRAUMANN, R., PASTENE, C, P., AZAR, C, O., COUVE, E., HERRERO, M, T., CAVIEDES, P., AGUILAR, J, S., **On the neurotoxicity mechanism of leukoaminochrome o-semiquinone radical derived from dopamine oxidation: mitochondria damage, necrosis, and hydroxyl radical formation.** Neurobiology of Disease, N<sup>o</sup>16, p 468-477, 2004.
- [24] BARRETO, W.J.,PONZONI, S., SASSI, P., **A Raman study of catecholamines oxidized with Mn(III).** Spectrochimica Acta Part A. N<sup>o</sup> 50, p 65-72, 1999.
- [25] GRAHAM, D. G. **Oxidative Pathways for Catecholamines in the Genesis of Neuromelanin and Cytotoxic Quinones.** Molecular pharmacology, N<sup>o</sup> 14, p 633-643,1978.

- [26] LINERT, W. HERLINGER, E. JAMESON, R. F. KIENZL, E. JELLINGER, K. YODIM, M. B. H. **Dopamine, 6-hydroxydopamine, iron, and dioxygen – their mutual interactions and possible implication in the development of Parkinson's disease.** *Biochimica et Biophysica Acta.* N° 1316, p160-168, 1996.
- [27] RONALD, D., SNYDER, M. B. F. **Enhancement of cytotoxicity and clastogenicity of L-DOPA and dopamine by manganese and copper.** *Mutation Research.* N° 405, p 1–8, 1998.
- [28] PALOP, S. G. R., CALATAYUD, A. M. J. M. **Oxidation of adrenaline and noradrenaline by solvated molecular oxygen in a FIA assembly.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* N° 27, p 1017–1025. 2002.
- [29] GERGELY, A., KISS, T., DEAK, G., SOVAGO, I., **Complexes of 3,4-Dihydroxyphenyl Derivatives IV. Equilibrium Studies on some Transition Metal Complexes formed with Adrenaline and Noradrenaline.** *Inorganica Chimica Acta,* N° 56, p 35-40, 1981.
- [30] STRAUSAK, D., MERCER, J. F. B., DIETER, H. H., STREMMEL, W. MULTHAU, G. **Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases,** *Brain Research Bulletin,* Vol. 55, N° 2, p 175-185, 2001.
- [31] EL-AYAAN, U., JAMESON, R. F., LINERT, W. **A kinetic study of the reaction between oradrenaline and iron (iii): an example of parallel inner and outer-sphere electron transfer.** *J. Chem. Soc., Dalton Trans.,* p 1315-1319, 1998.
- [32] WALAAS, E., WALAAS, O., HAAVALDSEN, S. Spectrophotometric and Electron-Spin Resonance Studies of Complexes of Catecholamines with Cu(II) Ions and the Interaction of Ceruloplasmin with catecholamines. **Archives of Biochemistry and Biophysics,** N° 100, p 97-109, 1963.
- [33] SCHILSKY, M. L., TAVILL A. S. **Wilson's Disease.** In: **Schiff ER, Sorrel MF, Maddrey WC. Schiff's Disease of the Liver.** 8<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, p 1091-1106, 1998.
- [34] TUMER, Z., LUND C., TOLSHAVE J., VURAL B., TONNESEN T. and HORN N. **Identification of point mutations in 41 unrelated patients affected with Menkes disease.** *American Journal Human Genetic.* N° 60, p 63-71, 1997.
- [35] COX, D. W., ROBERTS E. A. **Wilson's Disease.** In: **Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH. Sleisenger e Fordtrans's Gastrointestinal and Liver Disease.** 6. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, p 1104-1112, 1998.
- [36] WILSON, S. A. K. **Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver.** *Brain,* v 34, n 295, p 507, 1912.
- [37] CUMINGS, J. N. **The copper and iron content of brain and liver in the normal and in hepato-lenticular degeneration.** *Brain,* N° 71, p 410-415, 1948.
- [38] ROH, J. K., LEE, T. G., WIE, B. A., LEE, S. B., PARK, S. H., CHANG, K. H.

**Initial and follow-up brain MRI findings and correlation with the clinical course in Wilson's disease.** *Neurology*. N°44, p 1064–1068, 1994.

[39] JEON, B., KIM, J.M., JEONG, J.M., KIM, K.M., CHANG, Y.S., LEE, D.S., LEE, M.C. **Dopamine transporter imaging with [<sup>123</sup>I]-beta-CIT demonstrates presynaptic nigrostriatal dopaminergic damage in Wilson's disease.** *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, N° 65, p 60–64, 1998.

[40] PARIS, I., DAGNINO-SUBIABRE, A., MARCELAIN, K., BENNETT, L. B., CAVIEDES, P., CAVIEDES, R., AZAR, C. O., SEGURA-AGUILAR, J., **Copper neurotoxicity is dependent on dopamine-mediated copper uptake and one-electron reduction of aminochrome in a rat substantia nigra neuronal cell line.** *Journal of Neurochemistry*, N° 77, p 519-529, 2001.

[41] ORTON, J.W. **Electron Paramagnetic Resonance.** London, 1968.

[42] MALHOTRA, V. M.; BUCKMASTER, H. A. **9 and 34 GHz EPR Study of the free radicals in various asphaltenes: Statistical correlation of the g-values with heteroatom content.** *Org. Geochem*, Vol.8, N° 4, p 235-239, 1985.

[43] ASSENHEIM, H. M. **Introduction to Electron Spin Resonance.** U.S.A: PLENUM PUBLISHING CORPORATION, 1966.

[44] EISBERG, R, RESNICK, R. **Física Quântica – Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas.** Rio de Janeiro : Campus, 1979.

[45] IKEYA, M. **New Applications of Electron Spin Resonance – Dating, Dosimetry and Microscopy.** London: World Scientific Co. Pte. LTDA, 1993.

[46] INGRAM, D. J. E. **Spectroscopy at Radio and Microwave Frequencies.** London: Butterworths, 1955.

[47] ALGER, R.S. **Electron Paramagnetic Resonance: technique and applications.** Wiley, N.Y., 1968.

[48] POOLE, C. P. **Electron Spin Resonance – A Comprehensive Treatise on Experimental Techniques.** USA: John Wiley & Sons, 1967.

[49] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T.A. **Análise instrumental**, 5<sup>a</sup> edição. 2002.

[50] OSWALDO SALA. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho.** Editora Unesp. 1996.

[51] PROTOPOPOFF, E., MARCUS, P. **Potential–pH diagrams for hydroxyl and hydrogen adsorbed on a copper surface.** *Electrochimica Acta*. N° 51, p 408–417, 2005.

[52] PROTOPOPOFF, E., MARCUS, P. **Potential–pH diagrams for sulfur and hydroxyl adsorbed on copper surfaces in water containing sulfides, sulfites or thiosulfates.** *Corrosion Science*, nº 45, p 1191–1201, 2003.

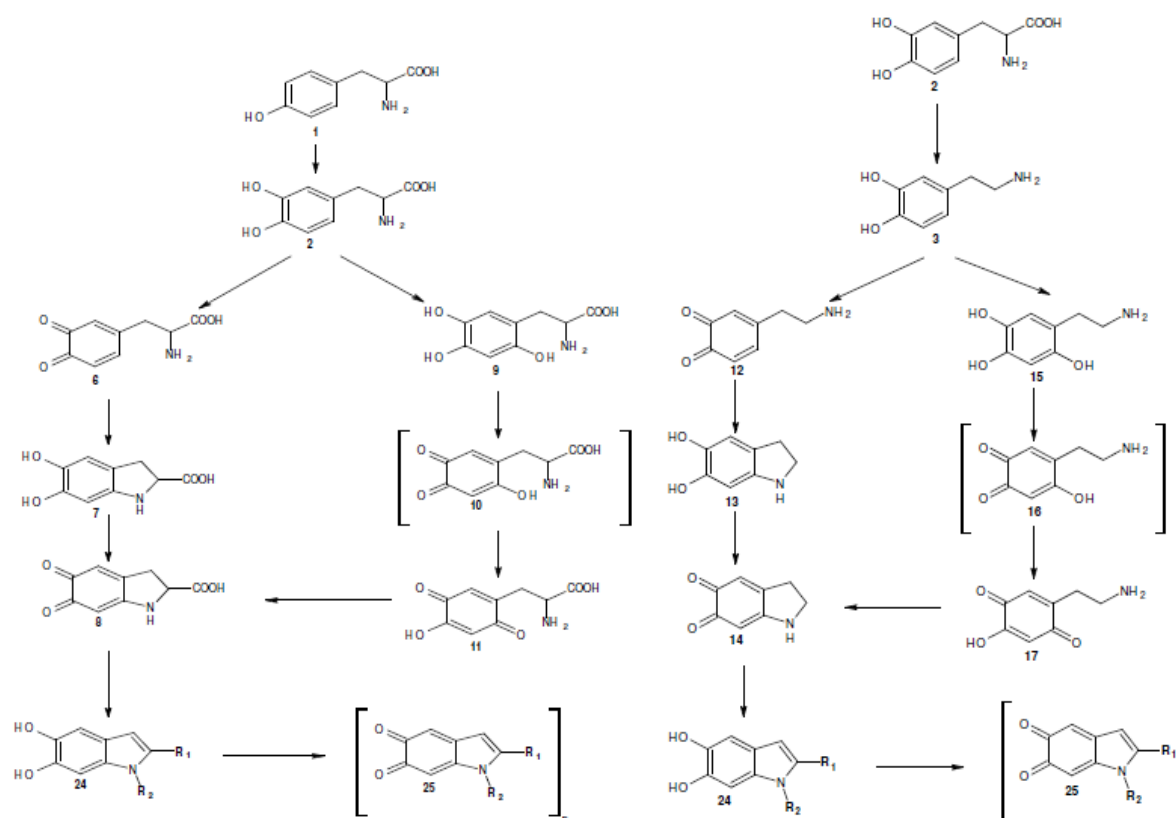
[53] POURBAIX, M. **Atlas of electrochemical equilibria in aqueous solutions.** National Association of Corrosion Engineers. Houston, 2<sup>o</sup> edition, 1974.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES -PARTE 1A

5.1 ESTUDOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS UV-VIS, PH E EH DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DURANTE A REAÇÃO DE CATECOLAMINAS (DOPAMINA, L-DOPA, ADRENALINA E NORADRENALINA) COM COBRE(II) EM MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO.

### 5.1.1 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina

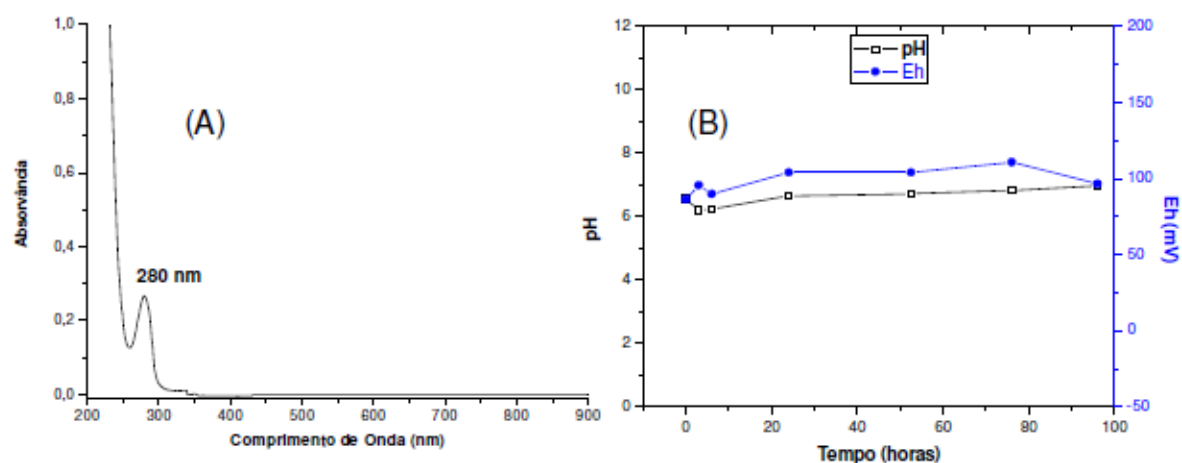
A L-dopa **(2)** oxidada pode formar L-dopacromo **(8)** e seguir oxidando até se polimerizar à melanina **(25)**, (Esquema 4)<sup>[1]</sup>. A L-dopa parcialmente oxidada, neste caso está na forma de L-dopaquinona **(6)**, que em parte é responsável pela toxicidade em culturas de neurônios não dopaminérgicos<sup>[2]</sup>. A reação de dopamina **(3)** com oxigênio do ar em solução aquosa de pH 7, ocorre com mudança de cor, tornando-se rosa com o passar do tempo, atribuída a formação do dopaminocromo **(14)**. A formação de dopaminocromo ocorre mesmo sem a presença de metal em solução<sup>[3]</sup>. Abaixo apresentamos o esquema proposto por Graham para os estados de oxidação da L-dopa e dopamina.



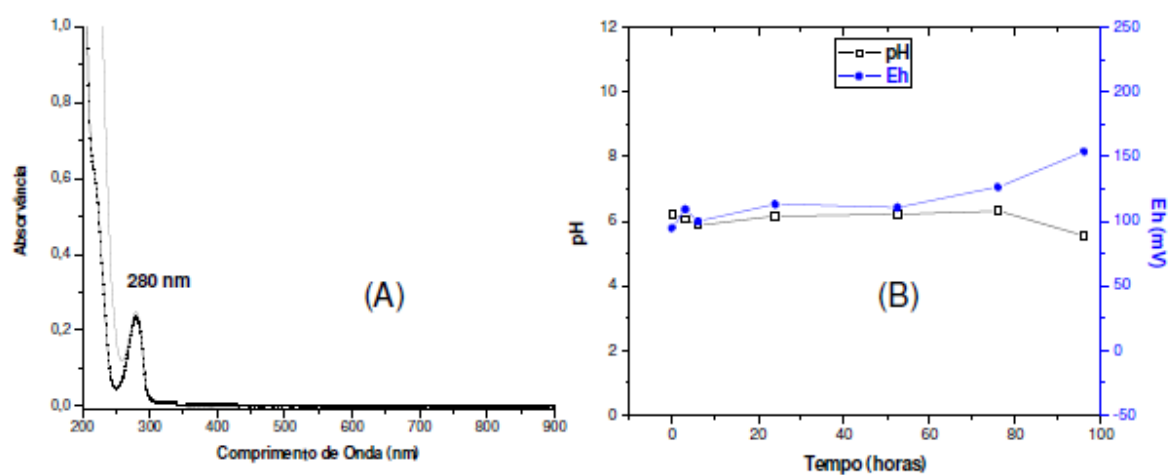
**Esquema 4** - Oxidação da L-dopa e dopamina de acordo com Graham, G. D,1978. 1, tirosina; 2, dopa; 3, dopamina; 6, dopaquinona; 7, leucodopacromo; 8, dopacromo; 9, topa; 10, topa o-quinona; 11, topa p-quinona; 12, dopamina o-quinona; ; 13, leucoaminocromo; 14, aminocromo; 15, 6-hidroxi-dopamina; 16, o-quinona de 6-hidroxi-dopamina; 17, p-quinona de 6-hidroxi-dopamina; 24, dihidroxyindol ( e derivados); 25, indol quinona ( e derivados). "n" refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina.

### 5.1.2 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina com Cobre(II) em Meio de Tiosulfato de Sódio

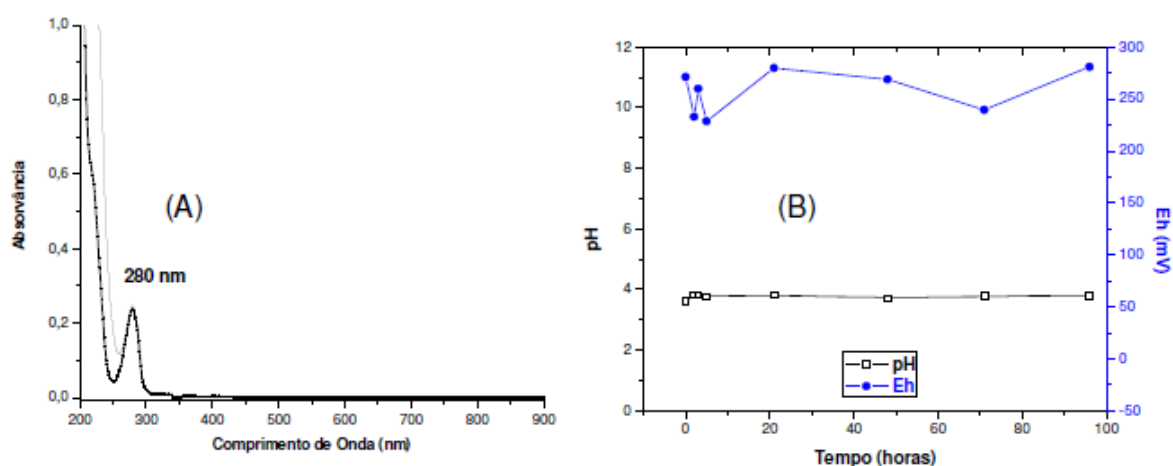
O espectro UV-vis das soluções, L-dopa e dopamina em meio de tiosulfato (Figuras 11 e 12) e L-dopa e dopamina em meio de cobre(II) (Figuras 13 e 14), apresentaram do início até o fim de reação, bandas de absorção em 280 nm, característico das catecolaminas.



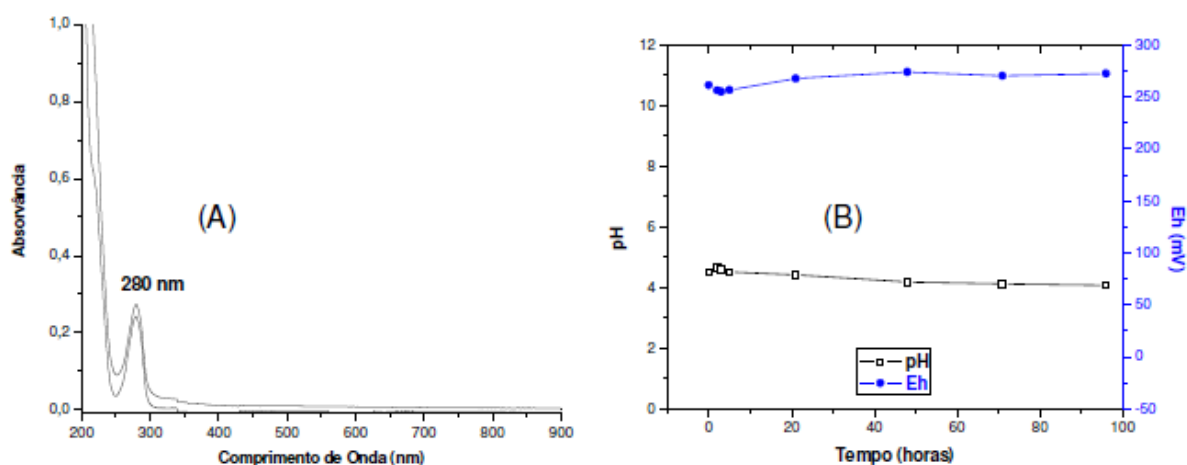
**Figura 11** - (A) Espectro UV-Vis representado durante todo tempo de reação, da solução aquosa de L-dopa (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.



**Figura 12** - (A) Espectro UV-Vis representado durante todo tempo de reação, da solução aquosa de dopamina (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.



**Figura 13** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de L-dopa (0,10 g) em meio de cobre(II)(0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.



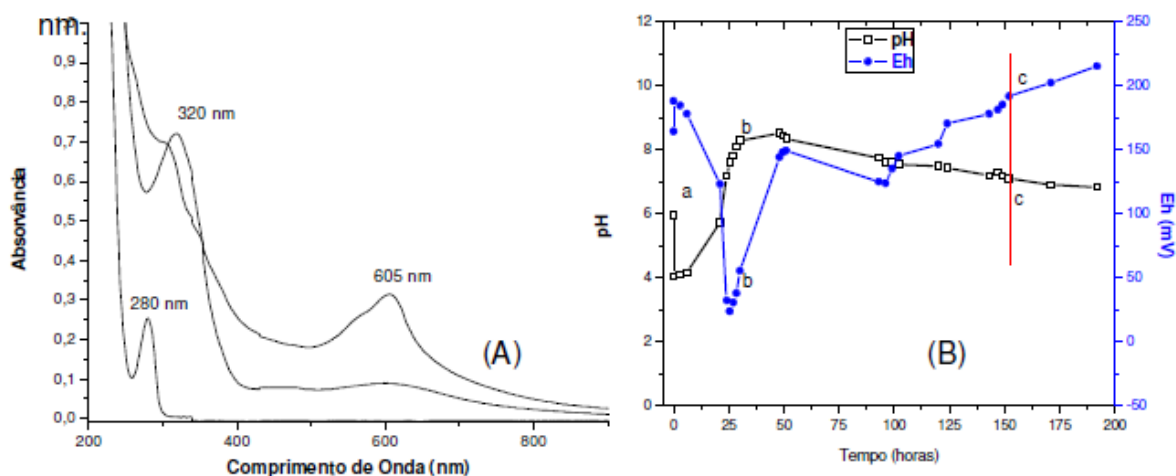
**Figura 14** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de dopamina (0,10 g) em meio de cobre(II)(0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

Os espectros de UV-Vis das soluções não se alteraram significativamente com o passar do tempo de reação. O pH e Eh para as soluções, L-dopa e dopamina em meio de tiosulfato foram: pH 6,9 e Eh 96,4 mV e pH 6 e Eh 150 mV e a solução permanecendo incolor durante todo o tempo de reação, indicando que não houve oxidação da L-dopa e da dopamina em solução. Atribuímos esse comportamento ao fato do tiosulfato atuar em solução como forte agente redutor, não possibilitando a oxidação destas catecolaminas. Para as soluções de L-dopa e dopamina em meio de cobre(II), o pH e Eh foram 3,8 e 280,9

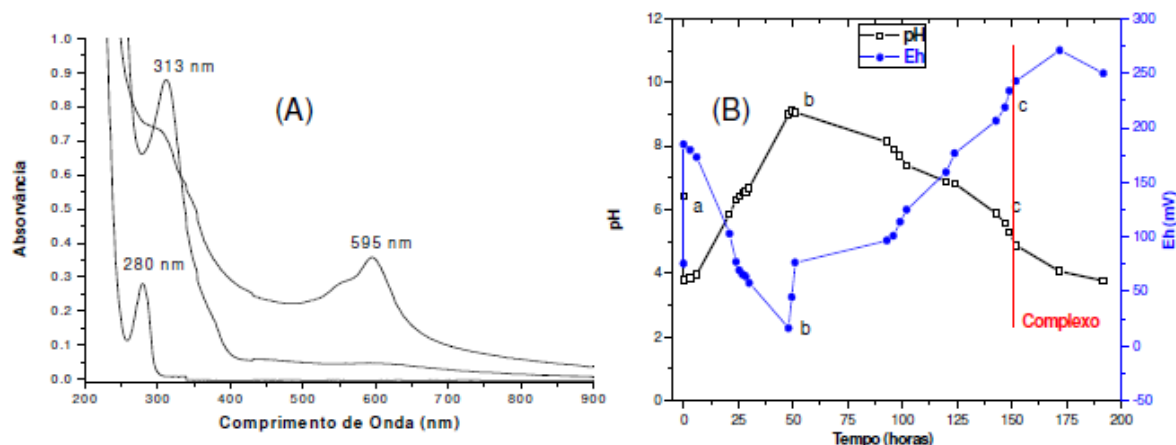
mV e 4 e 275 mV, respectivamente. Os espectros UV-Vis das soluções de L-dopa e dopamina em meio de cobre(II), não sofreram alterações significativas no decorrer de 100 horas de reação, no entanto as soluções tornaram-se levemente coloridas, sendo azul-claro para Ldopa e bege-claro para dopamina. Atribuímos a essa etapa de reação, a oxidação da L-dopa para L-dopacromo (**8**) e dopamina para dopacromo (**14**) catalisada por íons cobre(II) livres em solução. A reação se completou, com muito tempo de reação, a formação de uma substância negra insolúvel polimérica, chamada de melanina<sup>[4-6]</sup>.

### 5.1.3 Reação de Oxidação de L-dopa e Dopamina, em Meio de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio

Uma grande diferença ocorre nas soluções de L-dopa e dopamina em meio de cobre(II) na presença de tiosulfato. Os espectros UV-Vis das soluções de L-dopa e dopamina em meio de cobre(II) e presença de tiosulfato (Figuras 15 e 16) são semelhantes ao proposto por BARRETO et al, para o complexo de dopamina-Mn<sup>3+</sup><sup>[4,7]</sup> que apresentaram bandas em 312, 350 e 597

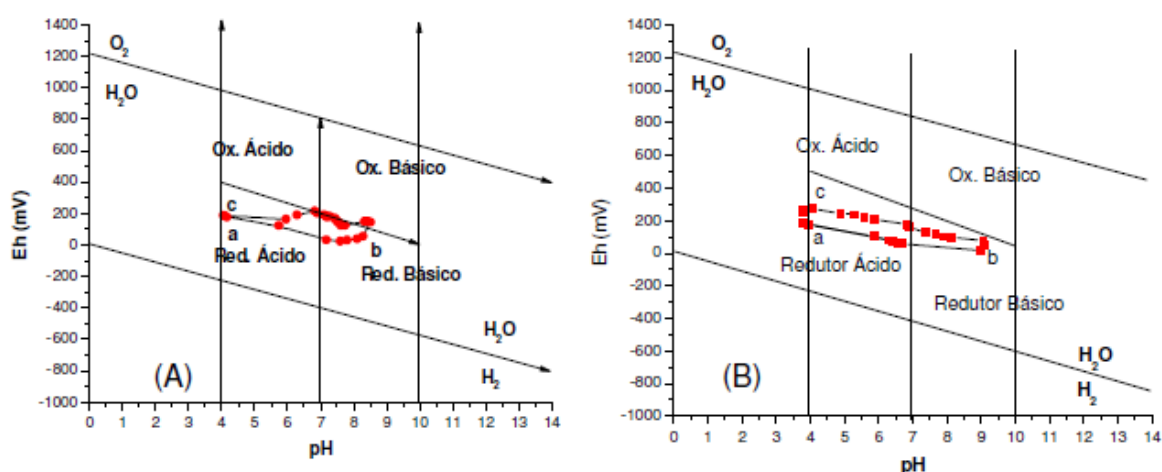


**Figura 15 -** (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de L-dopa (0,10 g), em meio de cobre(II) (0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g). a) 280nm fase inicial, b) 320nm fase intermediária e c) 605 nm fase final, (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.



**Figura 16** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de dopamina (0,10 g), em meio de cobre(II)(0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g), a) 280nm fase inicial, b) 313nm fase intermediária e c) 595 nm fase final), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

O espectro UV-Vis das soluções de L-dopa e dopamina, e as variações de pH e Eh com o tempo, apresentaram significativas diferenças durante a reação, que podem ser divididas em três etapas distintas de reação: **(i)** Início da reação; o espectro UV-Vis apresentou banda de absorção em 280 nm, pH 4,05 e Eh 187,8 mV para L-dopa e banda em 280 nm, pH 3,8 e Eh 184,7 mV para a dopamina. Neste estágio mostrou semelhanças com as soluções de L-dopa e dopamina em meio de cobre(II); **(ii)** Na fase intermediária, aproximadamente após 50 horas de reação, surgiram bandas de absorção em 320 nm e 605 nm para a L-dopa e em 313 nm e 595 nm para a dopamina, mudando a cor das soluções de amarelo para verde. As medidas eletroquímicas para as soluções de L-dopa e dopamina, em meio de cobre(II) e presença de tiosulfato, nesta fase, são diferentes em comparação às soluções sem tiosulfato de sódio. Os valores de pH e Eh das soluções se encaminharam para uma região chamada de redutora básica (diagrama de Pourbaix Figura17).



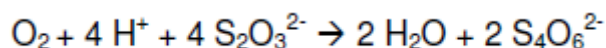
**Figura 17** - Diagramas de Pourbaix das soluções L-dopa (A) e dopamina (B) em meio de cobre(II) e presença de tiosulfato, a) fase inicial na região redutora ácido, b) fase intermediária na região redutora básico e c) fase final retorno a região redutora ácida.

Atribuímos a elevação do pH das soluções durante a reação, pH 8,5 para a solução de L-dopa e 9,1 para solução de dopamina, como resultado da incorporação de oxigênio em solução e pela redução do radical livre ( $S_2O_3^{\cdot-}$ )<sup>[8]</sup>.

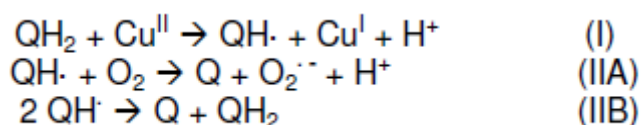
A formação do complexo é dependente da quantidade de Cu(II) presente em solução, sendo aumentada com o aumento do pH e é limitada pela quantidade de oxigênio em solução necessário para a oxidação da dopamina. O aumento do pH observado em solução pode ser explicado por reações paralelas durante a oxidação do íon tiosulfato. O mesmo aumento de pH foi observado na oxidação dos íons tiosulfato pelos íons peroxidissulfato<sup>[8]</sup>. Esta reação de oxirredução é incomum e a variação observada no pH seria resultado de reações paralelas. Os autores<sup>[8]</sup> observaram que quando o oxigênio foi borbulhado na solução, causou um grande aumento no pH, sem alterar a velocidade da reação. O aumento do pH foi atribuído ao seqüestro do oxigênio dissolvido em solução por radicais livres de tiosulfato (redutores). Através do formato das curvas de pH versus tempo, os autores assumiram que a reação era dependente do pH. A lei de velocidade desta reação paralela foi determinada como:

$$-d[H^+] / dt = k [S_2O_3^{2-}] [O_2] [H^+]$$

com a estequiometria:

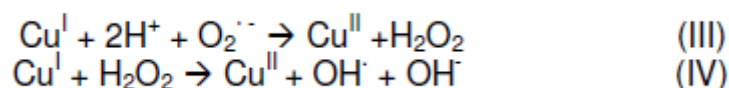


Assim, o aumento do pH que ocorreu na oxidação da dopamina e L-dopa na presença de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , pode ser causada pela mesma reação paralela e foi fundamental para formar o complexo aniônico de cobre. O tiosulfato foi responsável por promover um caminho diferente de reação, gerando espécies intermediárias estáveis e não polimerizadas (semiquinona e/ou quinona)<sup>[4,9]</sup> resultantes da oxidação da L-dopa e da dopamina. Por outro lado a formação de semiquinona pode ser resultado também da atividade redox do cobre, representado pelo esquema abaixo:



com  $\text{QH}_2$  = catecolato,  $\text{QH}\cdot$  = semiquinona,  $\text{Q}$  = quinona.

**(iii)** Na fase final de reação, após aproximadamente 150 horas de reação, ocorreu a oxidação de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  à  $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$  <sup>[8]</sup>, a solução tornou-se novamente ácida, pH 6,8 (L-dopa) e pH 5,5 (dopamina), Eh 215 mV (L-dopa) e Eh 218 mV (dopamina), com isso o íons  $\text{Cu}(\text{II})$  podem surgir em solução, devido a reações com intermediários oxidantes como,  $\text{O}_2^{\cdot -}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  <sup>[10]</sup>.



Os espectros UV-vis das soluções apresentaram bandas de absorção em 605 nm (L-dopa) e 595 nm (dopamina) indicando a formação de complexos com dopamina parcialmente oxidada e a solução apresentando coloração violeta. A presença de  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  foi fundamental para tornar a solução redutora básica, segundo quadrante na Figura 17, no qual houve formação e estabilização do complexo.

## 6 CONCLUSÕES

Verificou-se que para a solução de dopamina, ou L-dopa, e tiosulfato, as catecolaminas não sofreram oxidação devido ao tiosulfato ser um forte agente redutor. Para a solução de dopamina, ou L-dopa, com cobre(II), obteve-se pH muito ácido ( $\text{pH} < 4$ ) desfavorável para que houvesse formação de complexos do tipo metal-ligante, pois somente pH maiores que 5 são favoráveis para a formação de complexos. A presença de íons cobre(II) foi fator importante, junto com o oxigênio do ar, para que ocorresse a oxidação total das catecolaminas e levando à formação de melanina como produto final de reação. Porém, para a solução de dopamina, ou L-dopa, em meio de cobre(II) e na presença de tiosulfato de sódio, a reação foi completamente diferente das anteriores, ocorrendo complexação da dopamina, ou L-dopa, oxidadas na forma de semiquinona com íons cobre(II) favorecidos pelo pH elevado (9,0 – 9,5), com intensas bandas de transferência de carga em 595 e 605 nm respectivamente.

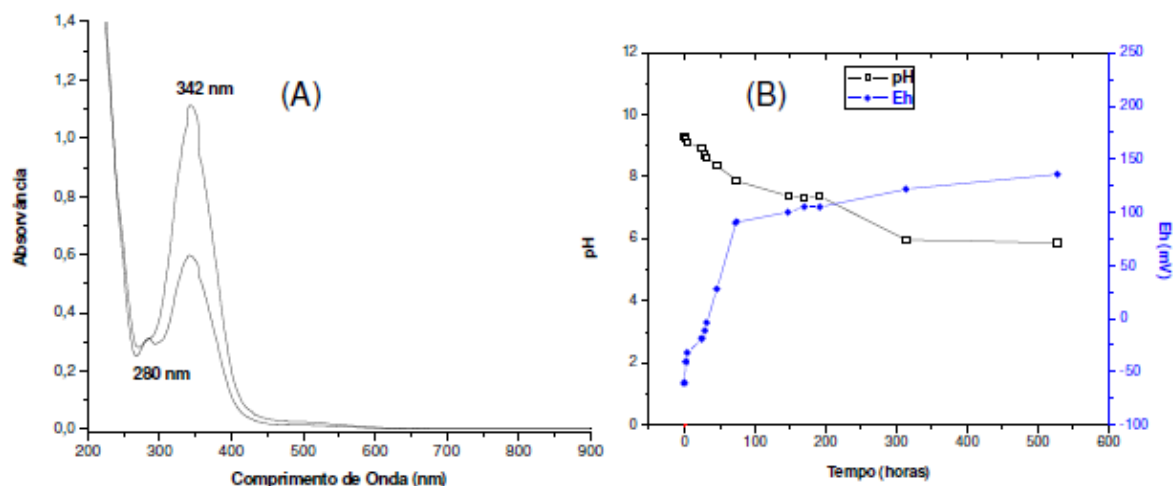
## 7 RESULTADOS E DISCUSSÕES -PARTE 1B

### 7.1 REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE ADRENALINA

Adrenalina é um diorto-fenol (contém dois grupos hidroxila na posição orto) é um forte agente redutor. Isso significa que é facilmente oxidado por diferentes oxidantes como: iodo, hexacianoferrato de potássio, persulfato de potássio, dióxido de magnésio e oxigênio molecular<sup>[11,12]</sup>. De acordo com diferentes autores, em determinadas condições, a oxidação da adrenalina pelo oxigênio molecular (adrenalina **(4)** → adrenoquinona **(21)** → adrenocromo **(23)**) conduzem à formação de um material insolúvel acastanhado de estrutura indefinida, chamada de neuromelanina<sup>[11,12]</sup>

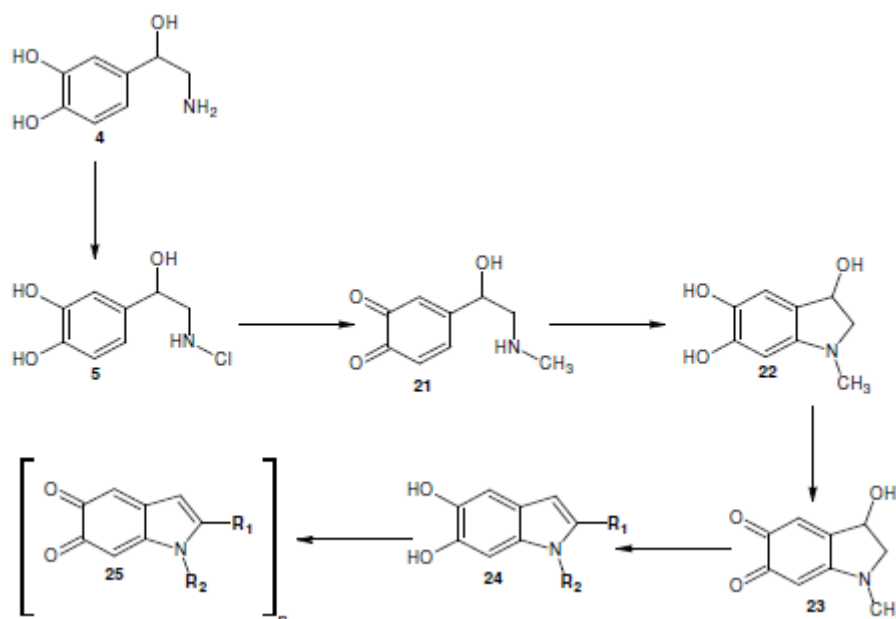
#### 7.1.1 Reação de oxidação de adrenalina em meio de tiosulfato de sódio

As figuras 18 A e 18 B abaixo apresentam o espectro UV-Vis da solução de adrenalina em meio de tiosulfato de sódio e medidas de pH e Eh.



**Figura 18** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g) em meio de tiosulfato de sódio (0,30 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

A solução com adrenalina e tiosulfato apresentou no início de reação, banda de absorção no UV em 280 nm, característico das catecolaminas. As medidas eletroquímicas obtidas foram pH 9 e Eh -60mV. Após 2 horas de reação a coloração se tornou amarela, com aparecimento da banda de absorção em 342 nm, com pH 8,3 e Eh 27,9 mV. No final de reação a coloração da solução passou a ser laranja, com banda de absorção intensa em 342 nm, quando o pH passou a ser ácido, 5,86, e Eh mais oxidante, 135,7 mV. Ao contrário da reação com dopamina e L-dopa nas mesmas condições o tiosulfato não foi capaz de “estabilizar” as moléculas em solução, ou seja, a adrenalina (**5**) sofreu oxidação formando adrenocromo (**23**). Estando de acordo com GERGELY et al <sup>[13]</sup>.

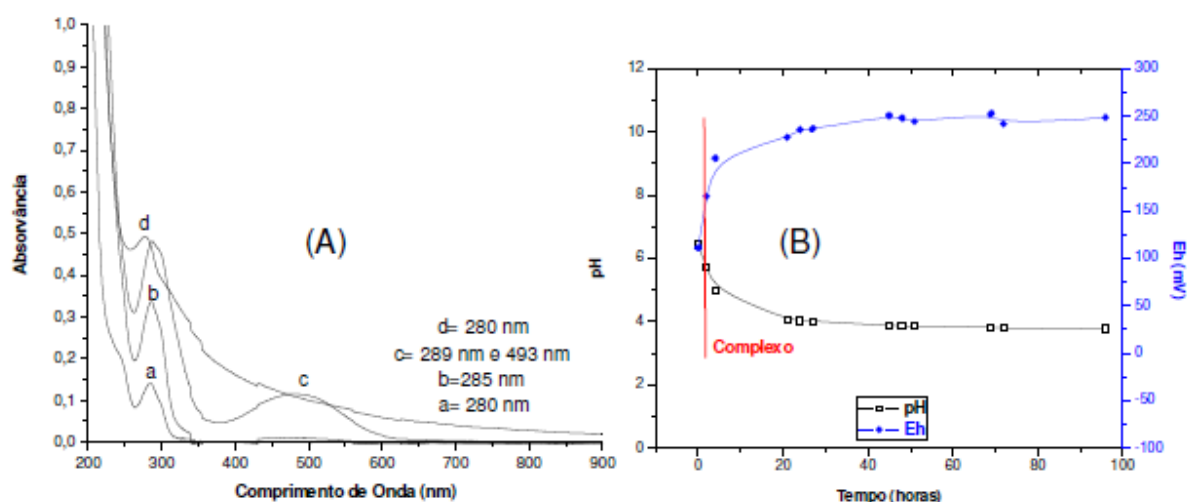


**Esquema 5** - Oxidação da Adrenalina de acordo com Graham, G. D, 1978. 4, noradrenalina; 5, adrenalina; 21, adrenalina o-quinona; 22, leucoadrenocromo; 23, adrenocromo; 24, dihidroxyindol (e derivados); 25, indol quinona (e derivados). "n" refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina.

### 7.1.2. Reação de oxidação de adrenalina em meio de nitrato de cobre(II)

Estudos espectroscópicos mostraram que a oxidação de uma solução de adrenalina em meio de íons cobre em pHs 7,4; 7,0; 6,5 e 6,0, resultaram em adrenocromo<sup>[14]</sup>. Resultados de ROBERTS et al<sup>[14]</sup> mostraram que em pH fisiológico e pH ácido, os íons cobre em solução podem acelerar a oxidação de adrenalina (**5**) à adrenocromo (**23**).

As figuras 19 A e 19 B abaixo apresentam os espectros UV-Vis da solução de adrenalina em meio de nitrato de cobre(II), medidas de pH e Eh.



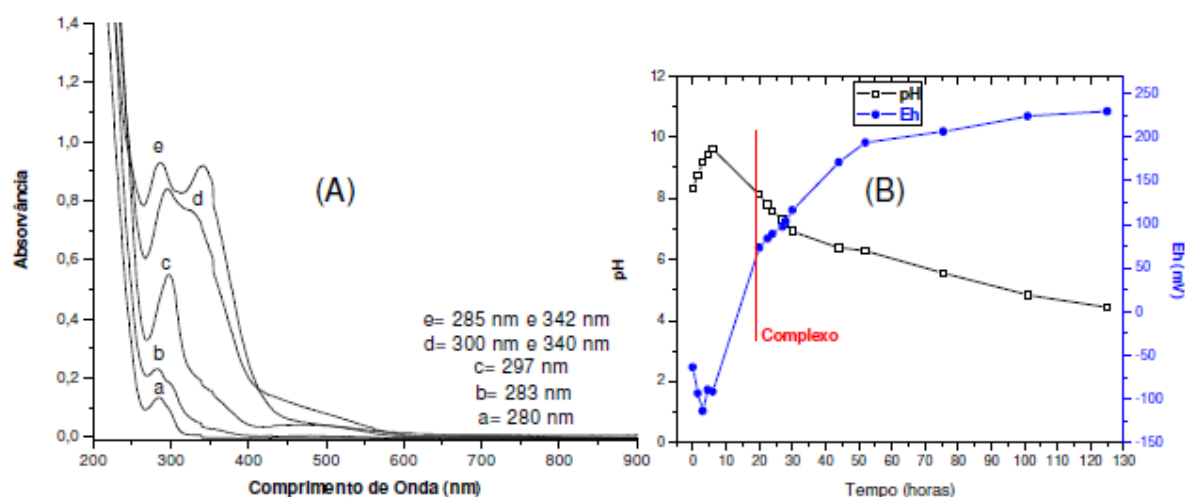
**Figura 19** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g) e de nitrato de cobre(II) (0,04 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

A reação de adrenalina com nitrato de cobre(II) é bem conhecida na literatura, na qual íons cobre em solução promovem a oxidação parcial da adrenalina, complexando-se na faixa de pH 5-9<sup>[13,15,16]</sup>. Resultados semelhantes foram obtidos em nosso trabalho. No início de reação o pH da solução foi de 6,45 e Eh 111 mV, a cor da solução era rosa com banda de absorção em 280 nm. Com duas horas de reação, a coloração da solução passou a laranja com bandas de absorção em 289 e 493 nm (pH 5,72 e Eh 165,2 mV) indicando a formação de um complexo com cobre ou algum composto com grupos cromóforos (Figura 19 A). Com 21 horas de reação (pH 4,07 e Eh 227,6 mV) o espectro de absorção apresentou apenas banda em 280 nm, (Figura 19 d), desaparecendo a banda em 493 nm atribuída a um complexo cobre-ligante, ou composto com grupo cromóforo. A solução apresentou cor avermelhada escura. O espectro de absorção apresentou absorção intensa e continua na direção do UV, (Figura 19 d), indicando um processo de formação de melanina.

### 7.1.3 Reação de Oxidação de Adrenalina, Nitrato de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio

Foi verificado por BARRETO et al<sup>[12,17]</sup> e GRAHAM<sup>[18]</sup> que catecolaminas em meio redutor ou oxidante respectivamente, apresentaram intermediários diferentes.

As figuras 20 A e 20 B abaixo apresentam o espectro UV-Vis da solução de adrenalina, nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato de sódio e medidas de pH e Eh.

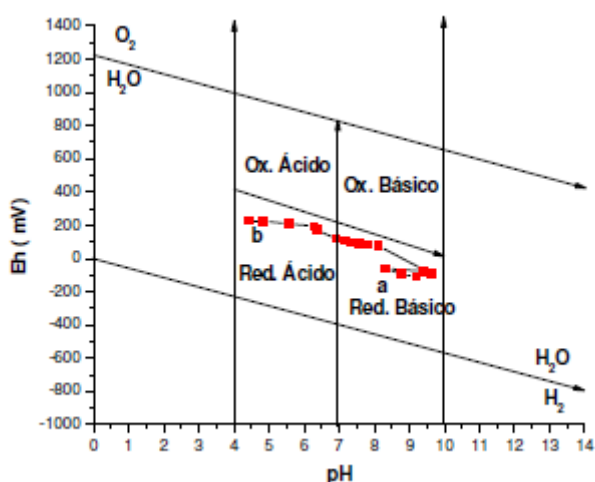


**Figura 20** - (A) Espectro UV-Vis da solução aquosa de adrenalina (0,10 g), nitrato de cobre(II)(0,04 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,30 g) a) 280nm, b) 283nm, c) 297nm, d) 300 e 340nm e e) 285 e 342 nm, (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

O espectro UV-vis da solução com adrenalina e nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato, pH e Eh, apresentou comportamento misto ao da reação de adrenalina em meio de tiosulfato e reação de adrenalina em meio de nitrato de cobre. No início de reação, 0 a 20 horas, o comportamento da solução foi semelhante aquele descrito da solução da adrenalina em meio de nitrato de cobre(II), apresentando pH em torno de 8, Eh -63,6 mV e bandas de absorção em 297 e 487 nm, e cor de solução laranja. Podemos atribuir a esta fase, a possível formação de complexo, visto que a reação se iniciou no segundo quadrante (Figura

21). O segundo quadrante ou campo redutor básico foi onde houve a formação dos complexos de Cu-L-dopa e Cu-dopamina.

A partir de 125 horas de reação, observou-se bandas em 286 e 342 nm, a reação se deslocou para o primeiro quadrante (Figura 21), ou seja, a reação terminou no campo redutor ácido com a banda em 342 nm, a mesma encontrada para a solução de adrenalina em meio de tiosulfato. Portanto, temos a adrenalina parcialmente oxidada, com os íons cobre livre em solução contribuindo para a oxidação. O pH 4,43, muito ácido contribuiu para a não formação de um complexo estável com o cobre. A coloração vermelho escuro da solução e Eh 229,8 mV, indicou oxidação total da catecolamina com formação de melanina como produto final de reação.



**Figura 21** - Diagrama de pourbaix da solução Adrenalina, nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato de sódio a) fase inicial na região redutora básica e b) fase final na região redutora ácida.

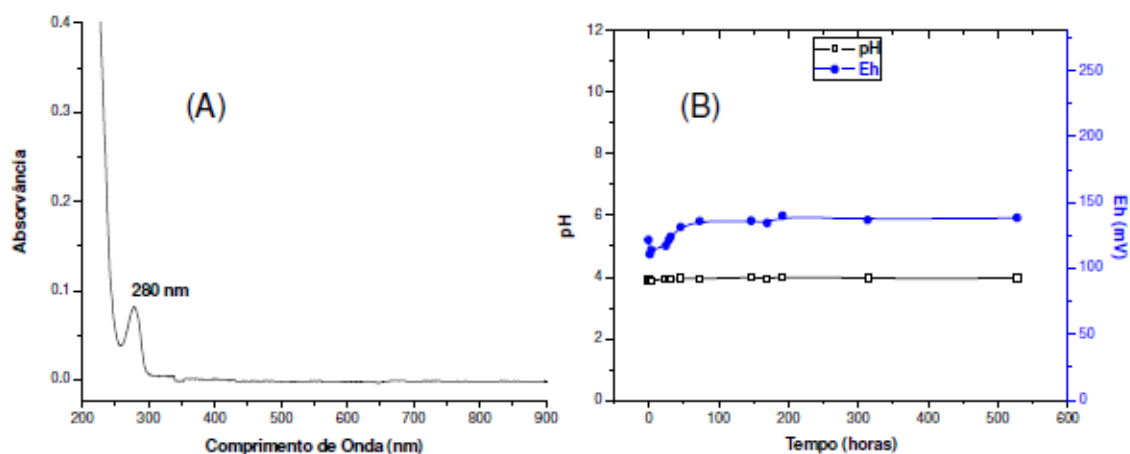
## 7.2 REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DE NORADRENALINA

Estudos anteriores tem mostrado que íons de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  em presença de oxigênio promove a oxidação não enzimática de noradrenalina **(4)** para noradrenocromo **(20)**. Esta conversão depende da formação do complexo de íons  $\text{Cu}^{\text{II}}$  com catecolaminas, que são "autoxidáveis". Enzimaticamente as catecolaminas

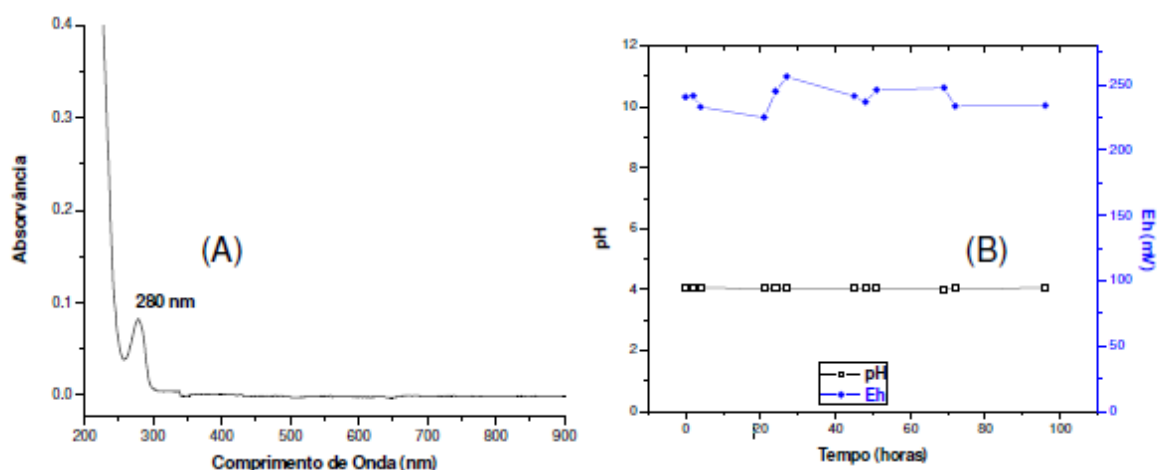
podem ser oxidadas as suas correspondentes formas indólicas pelas enzimas que contêm cobre como ceruloplasmina [11,16,18,19].

### 7.2.1 Reação de Oxidação de Noradrenalina em Meio de Tiosulfato de Sódio e Reação de Oxidação de Noradrenalina em Presença de Nitrato de Cobre (II).

As figuras 22 A, 22 B, 23 A e 23 B abaixo apresentam o espectro UV-Vis da solução de noradrenalina em meio de tiosulfato e noradrenalina em meio nitrato de cobre(II), e medidas de pH e Eh.

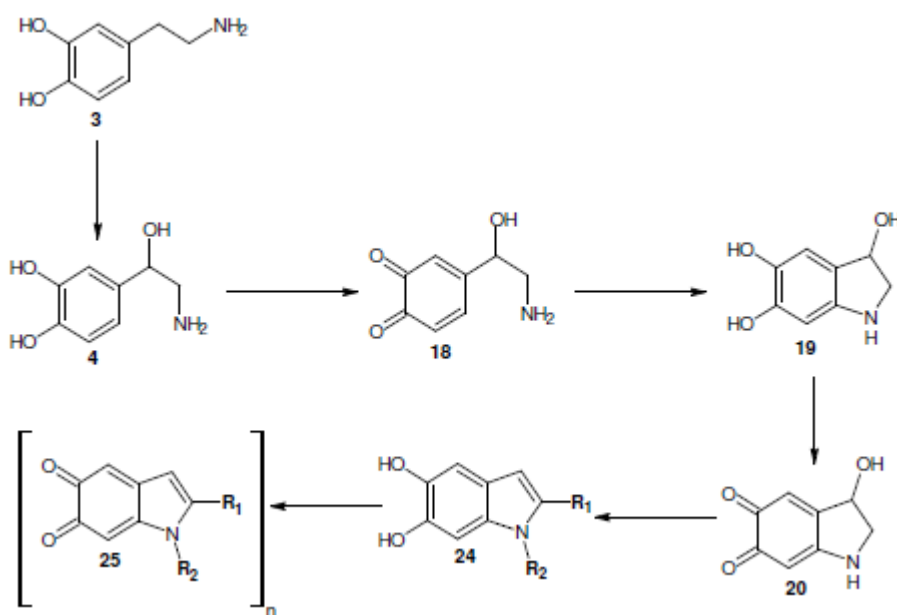


**Figura 22** - (A) Espectro UV-Vis durante todo tempo de reação, da solução aquosa de noradrenalina (0,05 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,08 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.



**Figura 23** - (A) Espectro UV-Vis durante todo tempo de reação, da solução de noradrenalina (0,05 g) em meio de nitrato de cobre(II) (0,01 g), (B) gráfico de pH e Eh em função do tempo de reação.

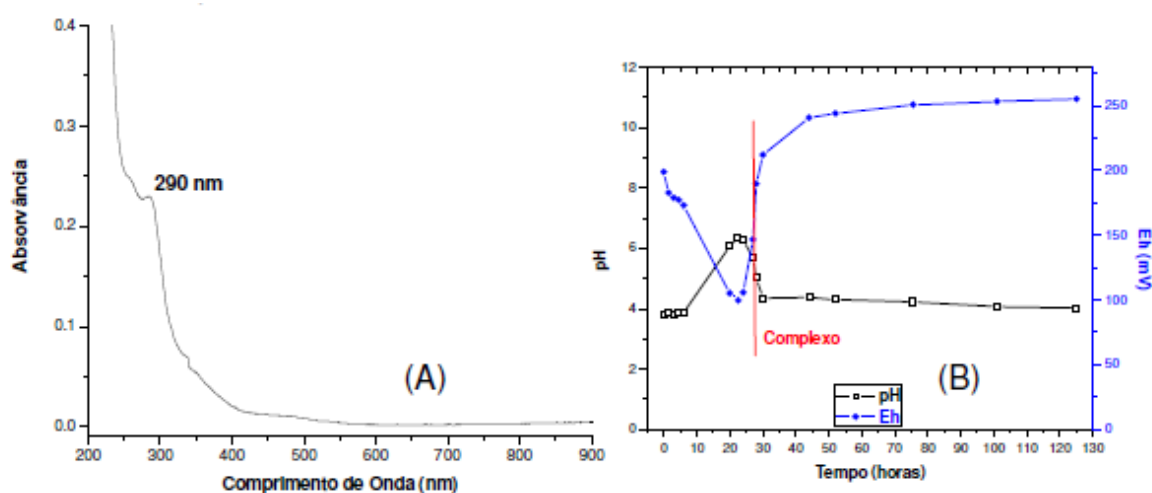
Para a solução de noradrenalina e tiosulfato, as medidas eletroquímicas foram constante durante todo tempo de reação com pH 3,9 e Eh 139 mV, apresentando banda de absorção em 280 nm. A solução de noradrenalina e nitrato de cobre(II) apresentou banda de absorção em 280 nm, pH 4,4 e Eh 256 mV, e coloração amarela, indicando a formação de noradrenocromo (**20**), devido aos íons de cobre(II) atuarem como agentes oxidantes de reação.



**Esquema 6** - Oxidação da Noradrenalina de acordo com Graham, G. D, 1978. 3, dopamina; 4, noradrenalina; 18, noradrenalina oquinona; 19, leuconoradrenocromo; 20, noradrenocromo; 24, dihidroxyindol ( e derivados); 25, indol quinona ( e derivados). "n" refere-se às probabilidades de polimerização e das espécies de quinonas formarem melanina.

### 7.2.2 Reação de Oxidação de Noradrenalina, Nitrato de Cobre(II) em Presença de Tiosulfato de Sódio

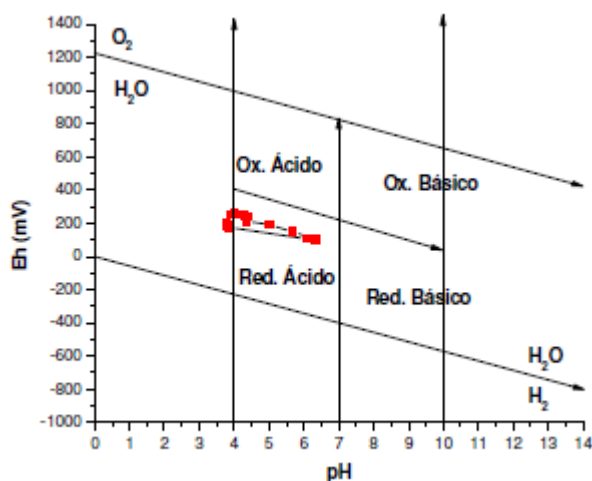
As figuras 24 A e 24 B abaixo apresentam o espectro UV-Vis da solução de noradrenalina e nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato e medidas de pH e Eh.



**Figura 24** - (A) Espectro UV-Vis final, da solução de noradrenalina (0,05 g), nitrato de cobre(II) (0,01 g) em presença de tiosulfato de sódio (0,08 g), e gráfico de pH, (B) Eh em função do tempo de reação.

A solução de noradrenalina e nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato, mostrou-se diferente das soluções anteriormente estudadas. A solução iniciou-se sem coloração, com banda de absorção em 280 nm, pH 3,78 e Eh 199 mV. Após 20 horas de reação a cor tornou-se verde, com pH 6,35 e Eh de 99,7 mV. Estas condições foram favoráveis a complexação, sendo que a coloração verde igualmente vista para as soluções de oxidação de L-dopa e dopamina, indicavam parcial oxidação da noradrenalina para noradrenoquinona **(18)** ou noradrenosemiquinona<sup>[20]</sup>. No entanto, não houve a formação de complexo porque a solução se estabilizou no campo redutor ácido com pH 4, sendo este pH muito ácido impedindo a formação do complexo. No final da reação a solução mudou a cor para

amarelo escuro atribuída à formação de noradrenocromo (20). O meio oxidante de Eh 255,3 mV, contribuiu para a total oxidação da catecolamina junto com os íons cobre(II) livres em solução causando a formação de melanina como produto final de reação.



**Figura 25** - Diagrama de Pourbaix da solução noradrenalina, nitrato de cobre(II) em presença de tiosulfato de sódio, a) fase inicial e final, na região redutora ácida.

## 8 CONCLUSÕES

Este trabalho estudou a oxidação e posterior complexação de adrenalina e noradrenalina com nitrato de cobre(II) e tiosulfato de sódio. Descobriu-se que para a solução de noradrenalina, o tiosulfato não teve influencia decisiva na oxidação total da noradrenalina devido ao pH ácido praticamente não variar durante a reação. Para a solução de adrenalina a coloração laranja, indicou oxidação e formação de adrenocromo e a complexação com cobre ocorrendo em pH maiores que 5. Com o passar do tempo de reação, como não há tampões que possam assegurar um pH favorável ao complexo, o pH cai à 4 e o Eh torna-se oxidante, desfavorecimento a formação do complexo Cu-adrenalina, e assim continuando o processo de oxidação das catecolaminas.

## 9 REFERÊNCIAS

- [1] HUSAIN, S., HADI, S. M. **DNA breakage by L-DOPA and Cu II : breakage by melanin and bacteriophage inactivation.** Mutation Research, nº 397, p 161–168, 1998.
- [2] PARDO, B., MENA, M.A., CASAREJOS, M. J., PALNO, C.L., De YEBENES, J.G. **Toxic effects of L-DOPA on mesencephalic cell cultures: protection with antioxidants.** Brain Research. nº 682, p133-143, 1995.
- [3] LINERT, W. HERLINGER, E. JAMESON, R, F. KIENZL, E. JELLINGER, K. YODIM, M, B, H. **Dopamine, 6-hydroxydopamine, iron, and dioxygen – their mutual interactions and possible implication in the development of Parkinson's disease.** Biochimica et Biophysica Acta. nº 1316, p160-168, 1996.
- [4] BARRETO, W.J., BARRETO, S.R.G., SANTOS, M.A., SCHIMIDT, R., PASCHOAL, F. M .M., MANGRICH, A. S., OLIVEIRA, L. F. C. **Interruption of the MnO<sub>2</sub> oxidative process on dopamine and L-dopa by the action of S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>.** Journal of Inorganic Biochemistry, nº 84, p 89–96, 2001.
- [5] GRAHAM, D. G. **Oxidative Pathways for Catecholamines in the Genesis of Neuromelanin and Cytotoxic Quinones.** Molecular pharmacology, nº 14, p 633-643, 1978.
- [6] WALAAS, E., WALAAS, O., HAAVALDSEN, S. **Spectrophotometric and Electron-Spin Resonance Studies of Complexes of Catecholamines with Cu(II) Ions and the Interaction of Ceruloplasmin with catecholamines.** Archives of Biochemistry and Biophysics, nº 100, p 97-109, 1963.
- [7] BARRETO, W.J., PONZONI, S., SASSI, P., **A Raman study of catecholamines oxidized with Mn(III).**, Spectrochimica Acta Part A. nº.50, p 65-72, 1999.
- [8] SORUM, C.H., EDWARDS, J.O. **Some aspects of the oxidation of thiosulfate ion by peroxydisulfate ion.** National meeting of the American Chemical Society. v.74. p 1204-1207, 1950.
- [9] BARRETO, W.J., ANDO, R.A., SANTOS, P.S., SILVA, W.P. **Preparation, UV-Vis, IR, EPR and resonance Raman study of Fe, Ni, Co and Zn dioxolene complexes,** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy (2006), doi:10.1016/j.saa.2006.12.037.
- [10] LEVAY, G., YE, Q., BODELL, W.J. **Formation of DNA Adducts and Oxidative Base Damage by Copper Mediated Oxidation Of Dopamine and 6-Hydroxydopamine.** Experimental Neurology. Nº 146, p 570-574, 1997.
- [11] PALOP, S.G., ROMERO, A. M., CALATAYUD, J.M. **Oxidation of adrenaline and noradrenaline by solvated molecular oxygen in a FIA assembly.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Nº 27, p1017–1025, 2002.

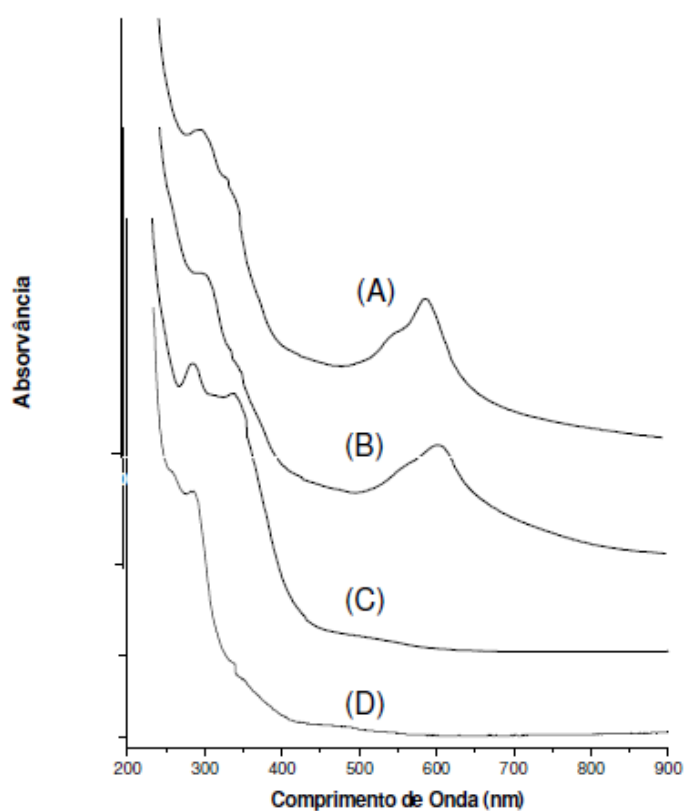
- [12] BARRETO, W.J., PONZONI, S., SASSI, P., **A Raman study of catecholamines oxidized with Mn(III).**, *Spectrochimica Acta Part A*, n.50, 65-72, (1999).
- [13] GERGELY, A., KISS, T., DEAK, G., SOVAGO, I., **Complexes of 3,4-Dihydroxyphenyl Derivatives IV. Equilibrium Studies on some Transition Metal Complexes formed with Adrenaline and Noradrenaline.** *Inorgânica Chimica Acta*, n° 56, p 35-40, 1981.
- [14] ROBERTS, A., BAR-OR, D., WINKLER, V.J., RAEL, T. L. **Copper-induced oxidation of epinephrine: protective effect of D-DAHK a synthetic analogue of the high affinity copper binding site of human albumin.** *Biochemical and Biophysical Research Communications*, n° 304, p755–757, 2003.
- [15] WALAAS, E., WALAAS, O., HAAVALDSEN, S. **Spectrophotometric and Electron-Spin Resonance Studies of Complexes of Catecholamines with Cu(II) Ions and the Interaction of Ceruloplasmin with catecholamines.** *Archives of Biochemistry and Biophysics*, n° 100, p 97-109, 1963.
- [16] STEPIEN, K.B.; DWORZANSKI, J.P.; BILINSKA, B.; BUDNY, M. P.; HOLLEK, A.M.; WILCZOK, T. **Catecholamine melanins. Structural changes induced by copper ions.** *Biochimica et Biophysica Acta*, n° 997, p 49-54, 1989.
- [17] BARRETO, W.J., BARRETO, S.R.G., SANTOS, M.A., SCHIMIDT, R., PASCHOAL, F. M. M., MANGRICH, A. S., OLIVEIRA, L. F. C. **Interruption of the MnO<sub>2</sub> oxidative process on dopamine and L-dopa by the action of S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>.** *Journal of Inorganic Biochemistry*, n° 84, p 89–96, 2001.
- [18] GRAHAM, D. G. **Oxidative Pathways for Catecholamines in the Genesis of Neuromelanin and Cytotoxic Quinones.** *Molecular pharmacology*, n° 14, p 633-643, 1978.
- [19] PIERPONT, C.G.; ALKIRE, N.; WHALEN, A.M.; ROCKENBAUER, A.; TISZA, S.; SPEIER, E.; TOTH, P.; TYEKLÁR, Z.; SPEIER, G. **Valence tautomerism and metal-mediated catechol oxidation for complexes of copper prepared with 9,10-phenanthroquinone.** *Inorg. Chem.* n° 40, p 5653-5659, 2001.
- [20] EL-AYAAN, U., JAMESON, R.F., LINERT, W. **A kinetic study of the reaction between oradrenaline and iron (iii): an example of parallel innerand outer-sphere electron transfer.** *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, p 1315-1319, 1998.

## 10 RESULTADOS E DISCUSSÕES - PARTE 2

### 10.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA; UV-VIS, RAMAN E IV DOS COMPLEXOS DE CATECOLAMINAS (DOPAMINA, L-DOPA, ADRENALINA E NORADRENALINA) COM COBRE(II) OBTIDO EM MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO

#### 10.1.1 Espectro de Absorção UV-Vis

Foram obtidos os espectros UV-VIs do complexo de dopamina e L-dopa em solução aquosa que apresentaram bandas em 308, 350 (ombro) e 605 nm para Cu(II)-L-dopasemiquinona e 305, 350 (ombro) e 595 nm para Cu(II)-dopasemiquinona (Figura 26A e 26B).



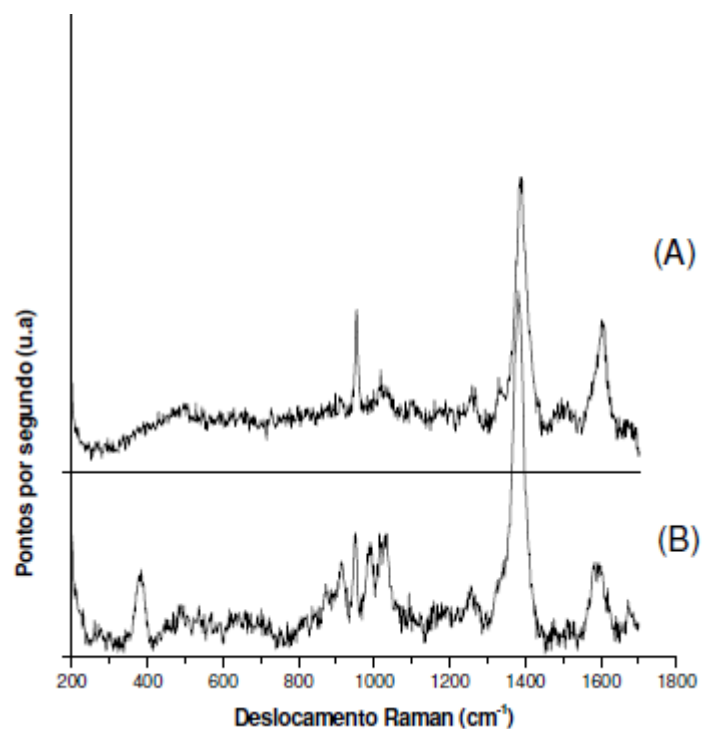
**Figura 26** - Espectros UV-Vis das soluções aquosas de: (A)  $[\text{Cu}(\text{II})(\text{dopasemiquinona})_3]^{1-}$ , (B)  $[\text{Cu}(\text{II})(\text{Ldopasemiquinona})_3]^{1-}$ . A (C) adrenalina e (D) noradrenalina oxidadas na presença de Cu(II) sem formar complexos estáveis.

As reações entre Cu(II) com adrenalina e noradrenalina (Figura 26C e 26D), nas mesmas condições experimentais de dopamina e L-dopa, não produziram complexos de transferência de carga com absorção na região do visível. Contudo, na região do ultravioleta a adrenalina e noradrenalina apresentaram modificações no espectro e na coloração, indicando que ocorreu oxidação durante o processo (Figura 26C e 26D).

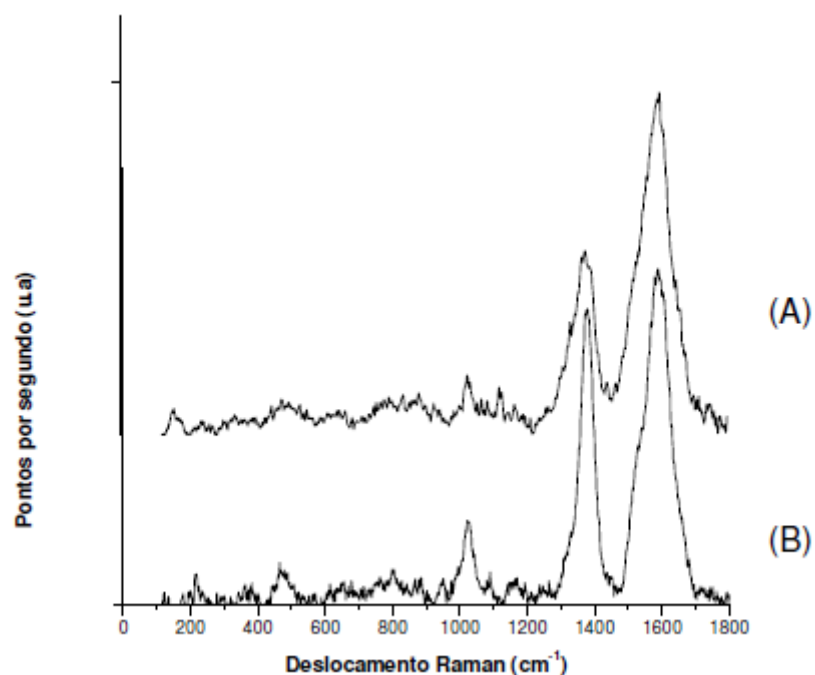
A banda de absorção em 308 nm é referente a transição intraligante  $\pi \rightarrow \pi^*$  derivada da banda em 280 nm da dopamina do tipo  $La-Lb$  <sup>[20]</sup> sendo característica de semiquinona<sup>[18]</sup>. A banda em 350 nm pode ser atribuída a uma transição intraligante. A intensa banda observada na região do visível é similar à encontrada no complexo do tipo  $[M(L^{-1})_3]^{1-}$ , onde  $M = Ni(II), Co(II)$  ou  $Zn(II)$  com bandas em 593, 603 e 585 nm, respectivamente, atribuídas a transições intraligantes  $\pi, \pi^*$  (ou  $n, \pi^*$ )<sup>[21]</sup>, correspondendo à transferência de um elétron do orbital  $\pi$ -ligante, ou não-ligante, para um orbital de alta energia anti-ligante.

#### 10.1.2 Espectros Vibracionais (Raman Ressonante e infravermelho)

O espectro Raman dos complexos em solução  $[Cu(II)(L^{1-})_3]^{1-}$ , no qual  $L^{1-}$  é dopasemiquinona, são mostrados nas Figura 27A e 27B. Os Complexos no estado sólido são mostrados nas Figura 28A e 28B, excitados a 514.5 nm, 647.1 nm e 632.8 nm.

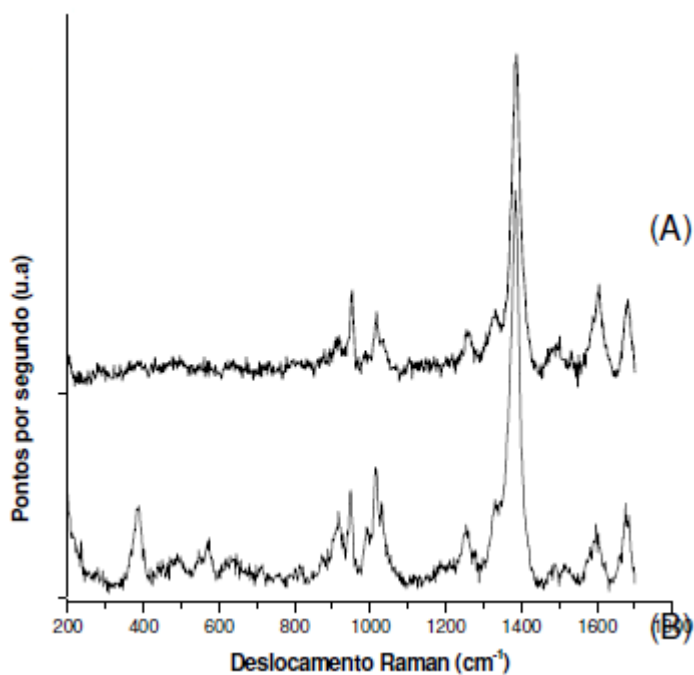


**Figura 27** - Espectro Raman de  $[\text{Cu}(\text{II})(\text{dopasemiquinona})_3]^{1-}$  em solução aquosa usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 647.1 nm (laser vermelho). Resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e potência laser de 250 mW.

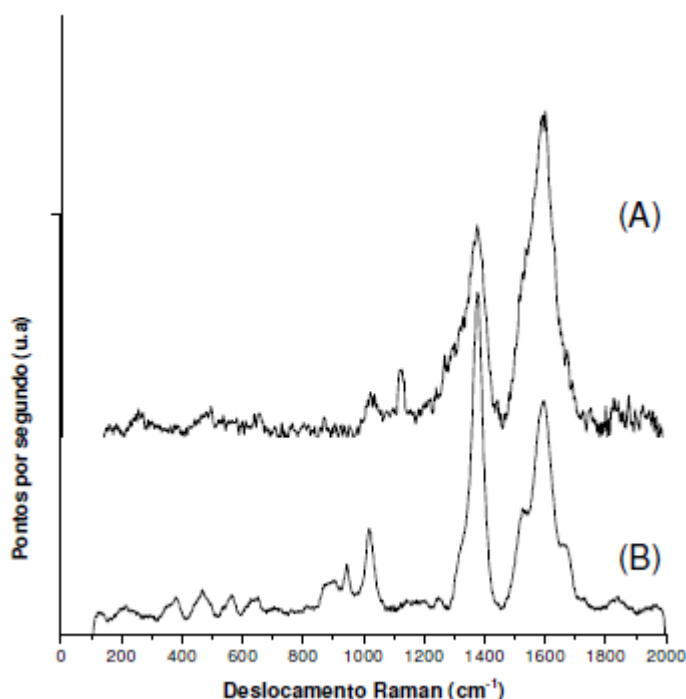


**Figura 28** - Espectro Raman de  $[\text{Cu}(\text{II})(\text{dopasemiquinona})_3]^{1-}$  no estado sólido usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 632,8 nm (laser vermelho). Resolução de  $5 \text{ cm}^{-1}$  e potência laser de 30 mW. CTA= cátion hexadeciltrimetilamônio.

O espectro Raman dos complexos em solução  $[\text{Cu(II)(L}^{1-})_3]^{1-}$ , no qual  $\text{L}^{1-}$  é L-dopasemiquinona, são mostrados nas Figura 29A e 29B. Os complexos no estado sólido são mostrados nas Figura 30A e 30B, excitados em 514.5 nm e 647.1 nm, 632.8 nm.

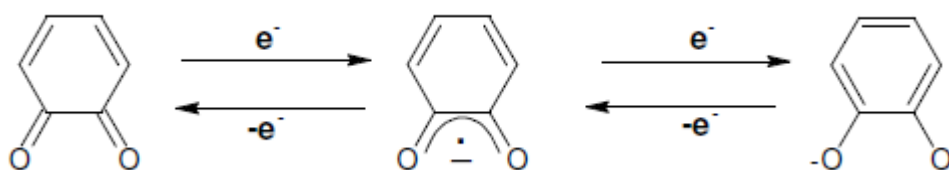


**Figura 29** - Espectro Raman de  $[\text{Cu(II)(L-dopasemiquinona)}_3]^{1-}$  em solução aquosa usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 647.1 nm (laser vermelho). Resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e potência laser de 250 mW.



**Figura 30** - Espectro Raman de  $[\text{Cu(II)(L-dopasemiquinona)}_3]1-$  no estado sólido usando excitação em: (A) 514.5 nm (laser verde); (B) 632.8 nm (laser vermelho). Resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e potência laser de 250 mW. CTA= cátion hexadeciltrimetilamonio.

Os dioxolenos apresentam três possíveis estados de oxidação; quinona (L), semiquinona ( $\text{L}^{1-}$ ) ou catecolato ( $\text{L}^{2-}$ ), esquema 7.



**Esquema 7** - Dioxolenos em suas formas redox: Da direita para esquerda, Catecolato ( $\text{L}^{2-}$ ), semiquinona ( $\text{L}^{1-}$ ) e quinona (L)<sup>[18]</sup>.

Para a caracterização dos ligantes dioxolenos ligados ao cobre nos complexos estudados a espectroscopia Raman ressonante foi muito importante, pois é uma técnica muito sensível às variações da distribuição eletrônica da molécula. Uma atribuição por tentativa das frequências vibracionais do complexo foi realizada apoiada em cálculos de frequência usando o modelo PM3 do programa Spartan 06<sup>[19]</sup>, Tabela 1.

**Tabela 4** - Freqüências observadas (em número de onda) e tentativas de atribuições para os complexos de cobre com dopamina e L-dopa oxidados em solução aquosa, solução de clorofórmio e estado sólido.

Atribuições	[Cu(dopasemiquinona)3]1-				[Cu(L-dopasemiquinona)3]1-				Calculado+
	Raman em solução		Sólido		Raman em solução		Sólido		
	Aquoso	Cloroformio	Raman <sup>a</sup>	IV	Aquoso	Cloroformio	Raman <sup>a</sup>	IV	
vCC	1675 vw	1596 s	----	----	1680 m	1596 s	1661 m,sh	----	1690
vCC <sub>mg</sub>	1590 m	----	1590 vs	----	1600 m	----	1592 s	----	1654
vCC	----	----	----	----	1516 vw	1573 sh	1527 m,sh	----	1545
vC <sub>1</sub> C <sub>2</sub> +vCO	1383 vs	1380 s	1379 vs	----	1384 vs	1380 s	1377 vs	----	1409
δCH+vCO	1255 vw	----	----	1255 sh	1252 w	----	1247 vw	1257 sh	----
vCC+vCO	----	----	----	1232 s	----	1216 w	----	1233 vs	----
vCC+vCO	----	1215 w	----	1212 vs	----	----	----	1214 vs	----
δCH	----	----	----	1115 sh	----	----	----	1116 sh,s	1118
δCH	1027 m	1022 w	1024 m	1031 s	1031w	1020 w	1021 m	1132 s	1134
δCH	1016 m	----	----	----	1016 m	----	----	----	----
δCH	991 m	----	----	----	992 w, sh	----	----	----	----
vCC+vCO	950 m	945 w	----	960 s	948 m	944 w	944 w	960 m	976
δCH	913 m	----	----	907 s	915 m	----	894 w,br	909 m	922
vM-O	----	----	----	631 m	----	----	----	631sh	----
vM-O	----	----	----	620 sh	----	----	----	618 m	----
vM <sub>mg</sub>	----	----	----	593 vs	570 w	----	563 w	593 m	580
vM <sub>mg</sub>	----	----	----	534 m	548 vw	----	----	534 m	538
----	----	----	----	518 m	----	----	----	519 m	----
----	490 vw	----	472 vw	----	488 vw,sh	----	467 w	----	----
vCu-ring	379 m	----	370 vw	----	385 m	----	380 w	----	387

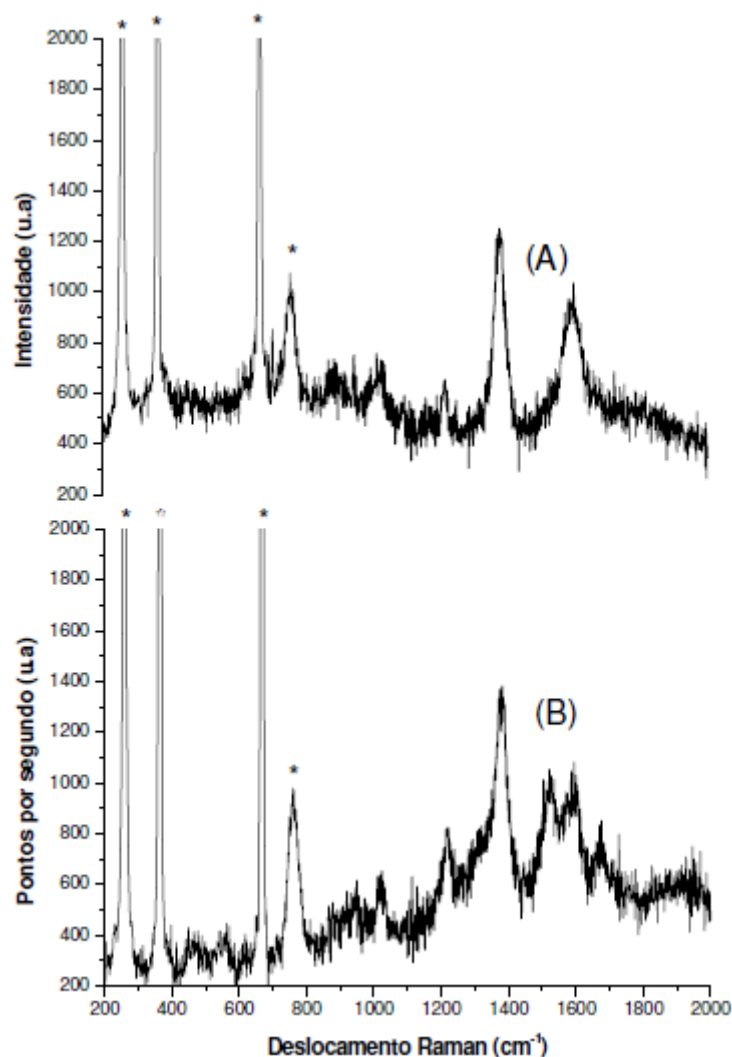
Calculado usando modelo PM3. Espectro Raman obtido usando laser em 632,8 nm para os sólidos e 647,1 nm para as soluções. Intensidades das Bandas: s = Forte, vs = Muito forte, w = Fraca, vw = Muito fraca, br = Larga, sh = Ombro, m = Médio. Não atribuímos as freqüências de CTAB do infravermelho.

A banda de maior intensidade para o complexo de cobre foi encontrada próximo de  $1380 \text{ cm}^{-1}$  para a freqüência de excitação de laser vermelho ( $\lambda = 647,1 \text{ nm}$   $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ ). Esta banda pode ser atribuída ao estiramento  $\nu_{\text{C}_1\text{C}_2} + \nu_{\text{CO}}$  que é característica do ligante semiquinona ( $\text{L}^{1-}$ ) enquanto que o ligante dopacatecolato ( $\text{L}^{2-}$ ) tem um banda similar intensa em ca  $1480 \text{ cm}^{-1}$  [22, 23].

Algumas bandas intensas no espectro Raman foram obtidos com excitação em 647.1 nm e em 514,5 nm, essas freqüências de radiação são próximas à freqüência de absorção no visível dos complexos (ca. 600 nm). As bandas em 379 e  $385 \text{ cm}^{-1}$  para Cu-dopasemiquinona e Cu-L dopasemiquinona, respectivamente, foram atribuídas ao estiramento simétrico de anel  $\text{Cu-O}_1\text{O}^2\text{C}^1\text{C}_2$ . Foram observadas outras bandas de média intensidade em 915 e  $1016 \text{ cm}^{-1}$  para a Cu-L-dopasemiquinona e em 913, 991 e  $1027 \text{ cm}^{-1}$  para a Cu-dopasemiquinona. Nossos cálculos mostraram que a região de estiramento simétrico para o modo de estiramento cobre-ligante se encontra em  $976 \text{ cm}^{-1}$ . Esta banda tem sido observada com intensidade média para os complexos de Ni(II), Co(II) e Zn(II) com tri-

dopasemiquinona e atribuído como  $\nu(\text{CH})$  baseado em cálculos usando o método DFT-BP<sup>[24]</sup>.

O espectro Raman ressonante para os complexos sólidos dissolvidos em clorofórmio (Figura 31A e 31B) mostrou que a banda de maior intensidade se encontra em ca.  $1380\text{ cm}^{-1}$  tanto para a Cu-dopasemiquinona quanto para a Cu-L-dopasemiquinona.



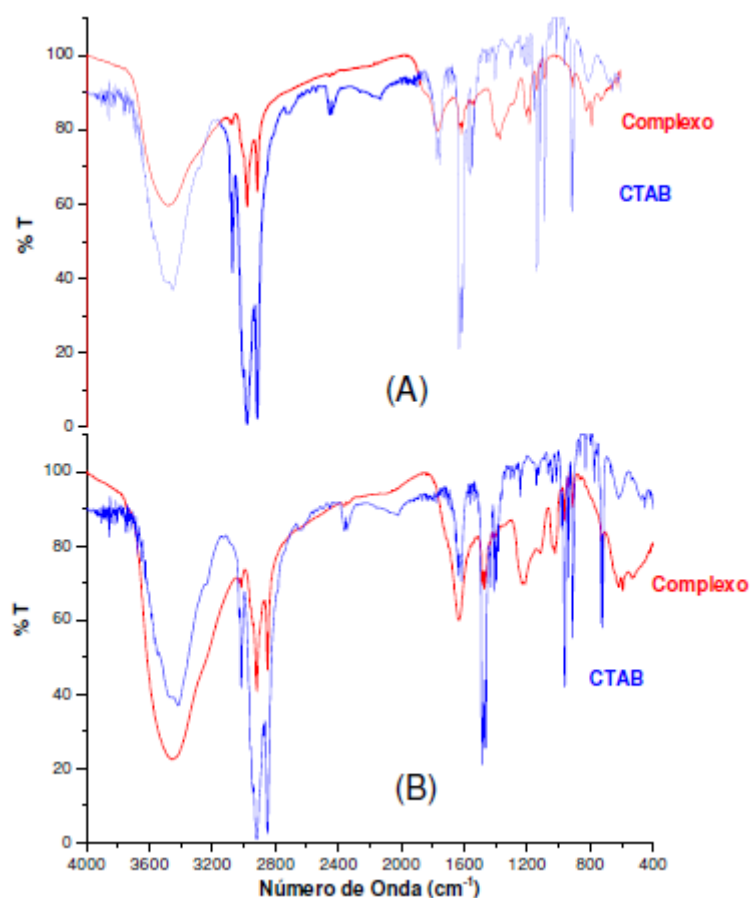
**Figura 31** - Espectro Raman da solução de clorofórmio: (A)  $[\text{CTA}][\text{Cu}(\text{II})(\text{dopasemiquinona})_3]^{1-}$  e (B)  $[\text{CTA}][\text{Cu}(\text{II})(\text{Ldopasemiquinona})_3]^{1-}$ , excitado com radiação de  $632.8\text{ nm}$ . Os asterísticos indicam as bandas de clorofórmio.

As bandas atribuídas ao estiramento simétrico Cu-O<sub>1</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>C<sub>2</sub> (Cu-anel), apareceu no espectro Raman como uma banda fraca em 370 e 380 cm<sup>-1</sup> para a Cu-dopasemiquinona e a Cu-L-dopasemiquinona, respectivamente.

O espectro Raman excitado em 514.5 nm mostrou que as bandas atribuídas ao estiramento carbono-carbono  $\nu(\text{CC})$  para o anel aromático estão em 1590 cm<sup>-1</sup> (Cu-dopasemiquinona) e 1592 cm<sup>-1</sup> (Cu-L-dopasemiquinona), sendo mais intensas relativamente às bandas em 1383 cm<sup>-1</sup> e 1377cm<sup>-1</sup> respectivamente, indicando um efeito Raman Ressonante.

O sólido precipitado da solução de clorofórmio mostrou as mesmas frequências daquelas observadas em solução aquosa, Tabela 4.

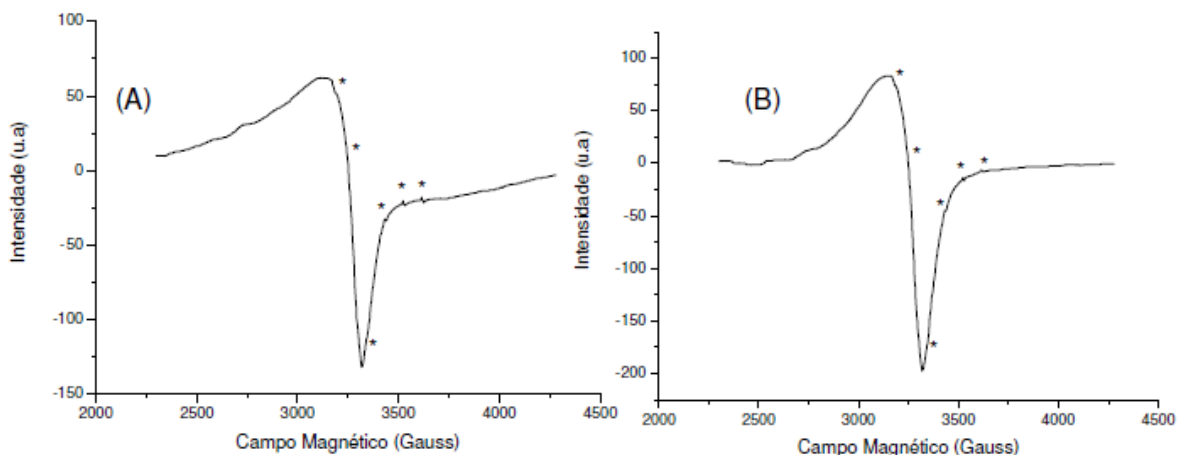
As bandas do espectro de infravermelho do complexo foram encobertas pelo espectro de CTA exceto abaixo de 690 cm<sup>-1</sup> e no intervalo de 900 a 1350cm<sup>-1</sup>. Duas bandas intensas e largas na região do infravermelho ocorreram para Cu-dopasemiquinona em 1232 e 1212 cm<sup>-1</sup> (Figura 32A) e para Cu-L-dopasemiquinona em 1233 e 1214 cm<sup>-1</sup> (Figura 32B) atribuídas à contribuições dos modos vibracionais  $\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO})$ . No espectro Raman somente uma banda de absorção foi observada em 1256 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 32 -** Espectro no infravermelho: em vermelho, CTAB, brometo de hexadeciltrimetilamonio; (A) em azul  $[CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)_3]^{1-}$ ; (B) em azul  $[CTA][Cu(II)(Ldopasemiquinona)_3]^{1-}$ . Pastilha de KBr (1:100), resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e acumulação de 80 espectros. CTA= cátion hexadeciltrimetilamonio.

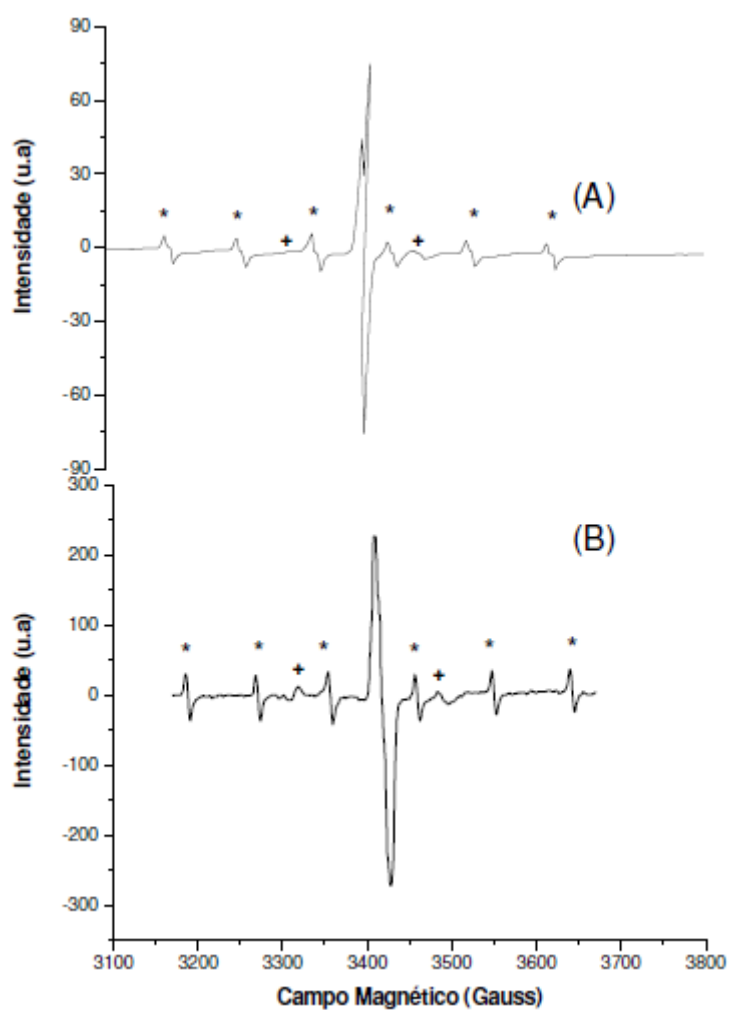
### 10.1.3 Caracterização por EPR

Os espectros de EPR (Figura 33A e 33B) dos complexos de  $[CTA][Cu(L^1)_3]$  em meio de clorofórmio mostram a presença de íons  $Cu(II)$  de acordo com V.Ramesh et al<sup>[25]</sup> e Musie G. T. et al<sup>[26]</sup>, com  $g = 2.0897$  (A) e  $g = 2.0923$  (B), para  $L^1 = dopasemiquinona$  e  $L^1 = L-dopasemiquinona$  respectivamente, indicando presença do íons cobre na forma  $Cu^{II}$ .



**Figura 33** - Espectro de EPR adquirido em temperatura ambiente: (A)  $[\text{CTA}][\text{Cu(II)}(\text{dopasemiquinona})_3]^{1-}$  em solução de clorofórmio; (B)  $[\text{CTA}][\text{Cu(II)}(\text{L-dopasemiquinona})_3]^{1-}$  em solução de clorofórmio. Os asterísticos indicam o Mn(II) como referência de campo.

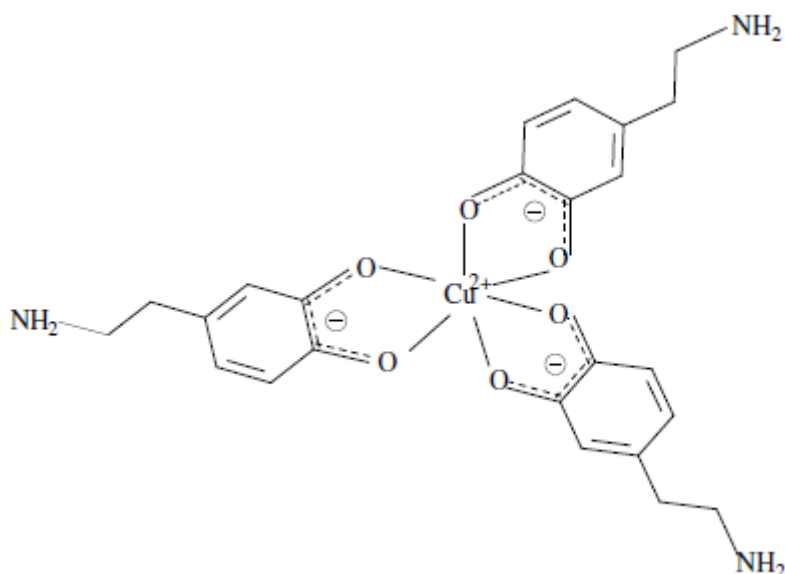
Soluções 100 vezes mais diluídas dos complexos  $[\text{CTA}][\text{Cu}(\text{L}^{1-})_3]$  em meio de clorofórmio e tolueno foram preparadas e obteve-se os espectros de EPR. As soluções mostraram absorções atribuídas aos radicais orgânicos com  $g = 1,9980$  (Figura 34A) e  $g = 2,0115$  (Figura 34B), para  $\text{L}^{1-} = \text{dopasemiquinona}$  e  $\text{L}^{1-} = \text{L-dopasemiquinona}$ , respectivamente. Os sinais marcados com cruz são as 4 linhas no espectro são característicos de Cu(II), com nove elétrons na camada de valência  $3d^9$ , tendo um elétron desemparelhado e spin nuclear  $I = 3/2$ , caracterizando a geometria molecular do complexo como um octaedro distorcido estando de acordo com V.Ramesh et al<sup>[25]</sup> e Musie G. T. et al<sup>[26]</sup>. O marcador Mn(II) foi usado como referência de campo. Esses valores de  $g$  confirmaram a natureza do ligante como um radical orgânico e também a presença de cobre na forma do cátion Cu(II). As formas oxidadas de cobreadrenalina e cobre-noradrenalina não apresentaram sinais de EPR.



**Figura 34** - Espectro de EPR adquirido em temperatura ambiente: (A) [CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)3]1- em solução de tolueno; (B) [CTA][Cu(II)(L-dopasemiquinona)3]1- em solução de clorofórmio. Os asterísticos indicam o Mn(II) como referência de campo e (+) indica a presença de Cu(II) em solução.

## 11 CONCLUSÕES

Foi mostrado que Cu(II) se complexou em solução aquosa com ligantes do tipo semiquinona, derivado da oxidação da dopamina Figura 35 e L-dopa.



**Figura 35** - Três dopaminas complexadas na forma de semiquinona.

O complexo apresentou uma intensa coloração (verde escuro para  $[CTA][Cu(II)(dopasemiquinona)_3]^{1-}$  e azul escuro para  $[CTA][Cu(II)(Ldopasemiquinona)_3]^{1-}$  com intensa absorção na região do visível atribuída a uma transição intraligante. A espectroscopia Raman ressonante mostrou que os ligantes são semiquinonas devido às bandas características em  $ca\ 1380\ cm^{-1}$ . Os ligantes mantiveram-se como radicais livres também no estado sólido, mesmo após dissolução em solventes orgânicos, sugerindo uma grande e incomum estabilidade para estes radicais. Foi mostrado que a dopamina e Ldopa podem formar complexos solúveis e estáveis em solução aquosa de pH neutro, ajudando a entender como complexos do tipo Cu(II)-dopamina podem atravessar a membrana celular e participar dos mecanismos da origem da Doença de Wilson. Observou-se também a especificidade da complexação de Cu(II) com a dopamina e com a L-dopa e não com a noradrenalina e adrenalina.

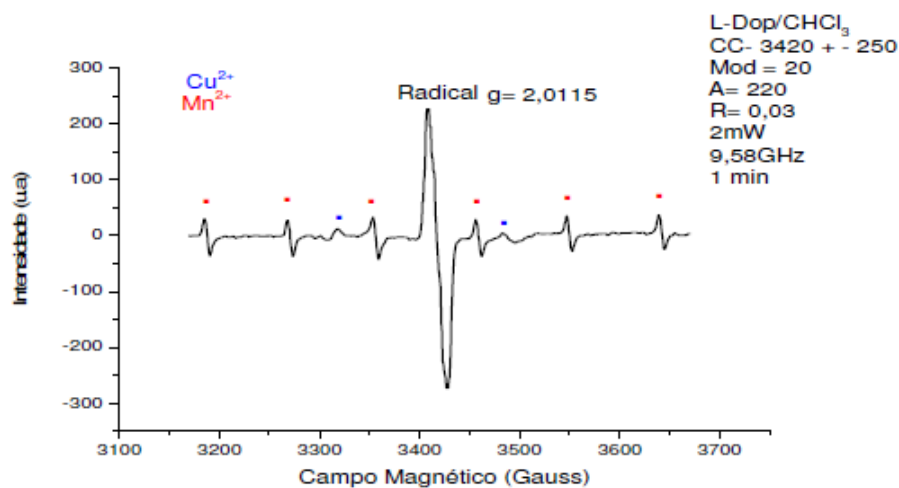
## 12 REFERÊNCIAS

- [18] VLCEK, Jr. A. **Metal and ligand oxidation states in dioxolene complexes: meaning, assignment and control**. Comments Inorg. Chem. v.16, n.4, p 207-228, 1994.
- [19] Spartan 06. Wavefunction, Inc., Irvine, CA.
- [20] BARRETO, W.J., PONZONI, S., SASSI, P., **A Raman study of catecholamines oxidized with Mn(III)**. Spectrochimica Acta Part A. v.50, p 65-72, 1999.
- [21] BARRETO, W. J., ANDO, R.A., SANTOS, P.S., SILVA, W.P. **Preparation, UV-Vis, IR, EPR and resonance Raman study of Fe, Ni, Co and Zn dioxolene complexes**. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. v.68, p 612-618, 2007.
- [22].SALAMA, S., STONG, J. D., NEILANDS, J. B., SPIRO, T. G. **Electronic and resonance raman spectra of iron(III) complexes of enterobactin, catechol, and N-methyl-2,3-dihydroxybenzamide**. Biochemistry. v.17, n.18, p 3781-3785, 1978.
- [23] MICHAUD-SORET, I., ANDERSSON, K. K., QUE Jr, L. **Resonance raman of catecholate and phenolate complexes of recombinant human tyrosine hydroxylase**. Biochemistry. v.34, n.16, p 5504-5510, 1995.
- [24] OHRSTROM, L., MICHAUD-SORET, I. **Fe-catecholate and Fe-oxalate vibrations and isotopic substitution shifts from DFT quantum chemistry**. J. Phys. Chem. A. v.103, p 256-264, 1999.
- [25] MUSIE, T. G., XIAOBAO, L., POWELL, D. R. **Novel tetranuclear copper (II) complexo f dicarboxymine ligand: Syntheses cristal structures and redox properties**. Inorg Chimica Acta. v.359, p 26-29, 2006.
- [26] RAMESH, V K., RAO, J.L, GOPAL, N.O. **EPR and optical absorption studies of Cu<sup>2+</sup> ions in alkaline earth alumino borate glasses**. Materials Research Bulletin. v.40, p 1256-1269, 2005.

## APENDICE

## APENDICE A (EPR)

### Cálculo de "g" do radical para o complexo de L-Dopa



$$h\nu = g\beta H \quad , \quad H = 3419,19 \times 10^9 \text{ Gauss (origin)}$$

$\nu$  é a frequência da microonda, (  $9,58 \times 10^6$  GHz )  
 $h$  é a constante de Planck, (  $6,626070154 \times 10^{-18}$  unidade )  
 $\beta$  é o magnéton de Bohr, (  $9,2740110 \times 10^{-21}$  erg/G )  
 $g$  é o fator espectroscópico  
 $H$  é o campo magnético (Gauss)

$$g = h\nu / \beta H$$

$$g = 2,1071$$

$g$  do  $\text{Mn}^{2+}$  (1,981) = Para ver se o campo não está deslocado.

$$H = h\nu / \beta g$$

$$H_{\text{Mn}^{2+}} = 3455,17 \times 10^9 \text{ Gauss}$$

### 2º Pegar Valor de Campo

$$d_{\text{L3-L4}} = AH = 86,96 \text{ (valor Fixo )}$$

$$d_{\text{L3-L4}} = 87,27 \text{ --- } 86,96$$

$$d_{\text{rad-L4}} = 184,49 \text{ --- } K$$

$$K = 183,83$$

$$H_{\text{Mn}^{2+}} = 3455,17 - 183,83$$

$$H_{\text{Mn}^{2+}} = 3471,34 \times 10^9 \text{ (valor de campo corrigido)}$$

$$g = hu / \beta H$$

$$g = (714,47728 \times 10^3 \times 9,58 \times 10^6) / 3471,34 \times 10^9$$

$$g \text{ do } \text{Cu}^{2+} = 2,0923$$

## APENDICE B (C H N e AA)

### Cálculo de C H N e AA do complexo de L-Dopa

L-Dopa = [57,46%C e 57,61%C] , [9,47%H e 9,38%H] , [4,55%N e 4,61%N] da CENTRAL ANALÍTICA

- Contas feitas apartir da fórmula :  $CTA^{1+}[Cu^{2+} L_3^{-1}]^{-1}$

$Cu(SQ)_3 [Cu(C_9 H_9 O_4 N)_3] = MM= 648,81 \text{ g/mol}$   
 $CTA = C_{19} H_{42} N = MM= 284,19 \text{ g/mol}$

$CTA + Cu(SQ)_3 = 933 \text{ g/mol}$

1. Valores próximos foram somando: a) 1  $H_2O \rightarrow 18 \text{ g/mol}$

$\%C = ( 19C + 27C ) = [46 C \times 12,01] = 552,46 / 951 = 58,09\% \text{ Carbono}$   
 $\% H = ( 42H + 27H + 2H ) = 71 H / 951 = 7,46\% \text{ Hidrogênio}$   
 $\%N = ( 1N + 3N ) = [4N \times 14] = 56 / 951 = 5,89\% \text{ Nitrogênio}$

Teórico  $\rightarrow \%Cu = 63,54 / 951 = 6,68\% \text{ Cobre}$

Prática  $\rightarrow$  a) 5,07 %

b) 5,98% , média foi de = 5,52% de Cu

2. Valores próximos foram somando: b) 2  $H_2O$

$\%C = ( 19C + 27C ) = [46 C \times 12,01] / 969 = 57,01\% \text{ Carbono}$   
 $\% H = ( 42H + 27H + 4H ) = 73 H / 969 = 7,53\% \text{ Hidrogênio}$   
 $\%N = ( 1N + 3N ) = [4N \times 14] / 969 = 5,78\% \text{ Nitrogênio}$

Teórico  $\rightarrow \%Cu = 63,54 / 969 = 6,55\% \text{ Cobre}$

Prática  $\rightarrow$  a) 5,07 %

b) 5,98% , média foi de = 5,52% de Cu